

**AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT**

**ESTUDO DA RELAÇÃO DO OSSO CORTICAL AVALIADO PELA  
TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA VERTEBRAL E BIÓPSIA  
ÓSSEA DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de São Paulo -  
Escola Paulista de Medicina para a  
obtenção do Título de Mestre em  
Ciências.**

São Paulo  
2020

**AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT**

**ESTUDO DA RELAÇÃO DO OSSO CORTICAL AVALIADO PELA  
TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA VERTEBRAL E BIÓPSIA  
ÓSSEA DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de São Paulo -  
Escola Paulista de Medicina para a  
obtenção do Título de Mestre em  
Ciências.**

**Orientador:**

**Prof. Dr. Aluizio Barbosa de Carvalho**

**Co-Orientador:**

**Profa. Dra. Maria Eugênia F. Canziani**

**São Paulo**

**2020**

Bittencourt , Amandha Luysa Martins Leal

**Estudo da relação do osso cortical avaliado pela tomografia computadorizada vertebral e biópsia óssea de pacientes com doença renal crônica / Amandha Luysa Martins Leal Bittencourt – São Paulo, 2020.**

xiii, 43f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Nefrologia.

**Título em Inglês: Evaluation of cortical bone assessed by vertebral computed tomography and bone biopsy in patients with chronic kidney disease.**

1. osteodistrofia renal. 2. biópsia óssea. 3. tomografia computadorizada. 4. doença renal crônica. 5. osso cortical.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEFROLOGIA**

**Chefe do Departamento:** Prof. Dr. Alvaro Pacheco e Silva Filho

**Chefe da Disciplina:** Prof. Dr. Agostinho Tavares

**Coordenador do Curso de Pós-Graduação:** Profa. Dra. Gianna Mastroianni  
Kirsztajn

**AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT**

**ESTUDO DA RELAÇÃO DO OSSO CORTICAL AVALIADO PELA  
TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA VERTEBRAL E BIÓPSIA  
ÓSSEA DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

Banca examinadora:

Prof. Dr. Felype de Carvalho Barreto

Profa. Dra. Maria Julia Correia Lima Nepomuceno Araujo

Profa. Dra. Melani Ribeiro Custodio

Suplente:

Profa. Dra. Fabiana Rodrigues Hernandez

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM) e recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## DEDICATÓRIA

Ao meu irmão, Rômulo, *in memoriam*, que sempre será lembrado com carinho e admiração.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Professor Dr. Aluizio Barbosa Carvalho, pela oportunidade e por todas as horas dedicadas em compartilhar seus conhecimentos, algo que vai muito além deste trabalho. À Professora Dra. Maria Eugenia Fernandes Canziani pela dedicação e conhecimento que agregou na construção desse trabalho. Aos dois, pelo esforço realizado em conjunto.

Ao Professor Dr. Carlos Rochitte, pela colaboração e suporte na execução deste projeto.

À minha família, sempre presente, mesmo que fisicamente distante, pelo apoio, estímulo e paciência. À Aurora, pelo apoio incondicional e incentivo constante ao meu crescimento.

Aos meus amigos, em especial à Larissa Biolcati, que caminhou ao meu lado na conclusão deste objetivo, sempre me incentivando nesta caminhada. Nossa amizade foi um presente construído ao longo desse trajeto e pela qual serei sempre grata. Ainda ao amigo Marcos Messias, pela generosidade de ter dividido seu tempo e conhecimento, pelo suporte especialmente na fase de coleta de dados, só tenho a agradecer.

Por fim, ao grupo do ambulatório do Osso, aos que estão e aos que já passaram, muito obrigada pela companhia e amizade.



## SUMÁRIO

Dedicatória .....	vi
Agradecimentos .....	vii
Lista de figuras .....	ix
Lista de tabelas .....	x
Lista de abreviaturas .....	xi
Resumo .....	xii
Abstract .....	xiii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
2.1 Estrutura e organização do tecido ósseo .....	2
2.1.1 Osso cortical .....	3
2.1.2 Osso trabecular .....	5
2.2 Fisiologia do tecido ósseo .....	6
2.3 Alterações bioquímicas dos DMO-DRC .....	8
2.4 Osteodistrofia renal (ODR) .....	9
2.5 Avaliação do osso cortical .....	11
2.5.1 Método de imagem .....	11
2.5.2 Biópsia óssea .....	13
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
3.1 Primário .....	16
3.2 Secundário .....	16
<b>4. MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
4.1 Pacientes e protocolo de estudo .....	17
4.2 Densidade do osso cortical vertebral .....	17
4.3 Biópsia óssea .....	18
4.4 Testes laboratoriais .....	19
4.5 Análise estatística .....	19
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>20</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>35</b>

### Anexo

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

## LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura cortical dos ossos longos, com o sistema de Havers em três dimensões .....	4
Figura 2. Estrutura do osso trabecular com representação de corte transversal do packet .....	5
Figura 3. Aumento da porosidade e trabecularização da cortical com o envelhecimento .....	8
Figura 4. Alterações no metabolismo mineral e ósseo na Doença Renal Crônica .....	9
Figura 5. Imagens da QCT de vértebra. (A) corte axial do corpo vertebral, (B) delimitação da cortical em imagem binária, (C) delimitação da cortical em imagem original .....	17
Figura 6. Frequências de distribuição da porosidade (A), espessura (B) e densidade (C) corticais .....	20
Figura 7. Correlação entre a porosidade e densidade (A), espessura e densidade (B) e porosidade e espessura corticais (C) .....	22
Figura 8. Relação entre tercís de porosidade cortical com fósforo (A) e PTHi (B) .....	24
Figura 9. Relação entre tercís de espessura cortical (Ct.Th) com cálcio iônico (A) e PTHi (B) .....	25
Figura 10. Relação entre tercís de densidade cortical e idade (A), cálcio iônico (B), fosfatase alcalina (C), PTHi (D) e fósforo (E) .....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características Clínicas e Demográficas (n=50) .....	19
Tabela 2. Correlação entre os parâmetros do osso cortical .....	21
Tabela 3. Correlação entre os parâmetros do osso cortical e variáveis clínicas e laboratoriais .....	23
Tabela 4. Relação entre porosidade cortical (Ct.Po) e parâmetros clínicos e laboratoriais .....	24
Tabela 5. Análise multivariada para tercís de porosidade cortical (Ct.Po) .....	24
Tabela 6. Relação entre espessura cortical (Ct.Th) e parâmetros clínicos e laboratoriais .....	25
Tabela 7. Análise multivariada para tercil de espessura cortical (Ct.Th) .....	26
Tabela 8. Relação entre densidade cortical e parâmetros clínicos e laboratoriais .....	26
Tabela 9. Análise multivariada para tercil de densidade cortical .....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS

aBMD	Densidade mineral e óssea por área, do inglês <i>areal bone mineral density</i>
BMD	Densidade mineral e óssea, do inglês <i>bone mineral density</i>
CT	Tomografia computadorizada, do inglês <i>computed tomography</i>
Ct.Po	Porosidade cortical, do inglês <i>cortical porosity</i>
Ct.Th	Espessura cortical, do inglês <i>cortical thickness</i>
DMO-DRC	Distúrbios Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica
DOA	Doença óssea adinâmica
DRC	Doença renal crônica
FGF23	Fator de crescimento de fibroblasto 23
HPTS	Hiperparatireoidismo secundário
HR-pQCT	Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução, do inglês <i>high resolution peripheral quantitative computed tomography</i>
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
M-CSF	Fator estimulante de colônias macrofágicas
Micro-CT	Microtomografia computadorizada, do inglês <i>micro-computed tomography</i>
ODR	Osteodistrofia renal
pQCT	Tomografia computadorizada periférica, do inglês <i>peripheral quantitative computed tomography</i>
PTH	Hormônio paratireoideiano, do inglês <i>parathyroid hormone</i>
PTHi	Hormônio paratireoideiano intacto
QCT	Tomografia computadorizada de vértebra, do inglês <i>quantitative computed tomography</i>
TFGe	Taxa de filtração glomerular estimada
TMV	Turnover, mineralização e volume
UH	Unidades de Hounsfield
vBMD	Densidade mineral óssea volumétrica, do inglês <i>volumetric bone mineral density</i>

## RESUMO

**Introdução:** O osso cortical, em relação ao trabecular, é pouco estudado no contexto da doença renal crônica (DRC). A biópsia óssea é a ferramenta padrão ouro na avaliação do tecido ósseo, embora seja um método invasivo e de alto custo. A possibilidade de usar uma técnica não invasiva, como a tomografia computadorizada quantitativa das vértebras (QCT) é clinicamente relevante. **Objetivo:** Investigar a relação entre os parâmetros da QCT e biópsia óssea do osso cortical de pacientes com DRC, assim como avaliar a associação desses parâmetros com os dados bioquímicos e hormonais nessa população. **Métodos:** Esta é uma análise *post hoc* de um estudo transversal de pacientes com DRC estágio 2-5ND, submetidos a exames laboratoriais, a tomografia de coronárias, da qual se extraiu a imagem da vértebra torácica, e biópsia óssea de crista ilíaca. As amostras ósseas não-descalcificadas foram analisadas por histomorfometria, utilizando o software *Osteomeasure*. Os parâmetros histomorfométricos analisados foram: porosidade cortical (%) e espessura cortical ( $\mu\text{m}$ ). A densidade óssea cortical da QCT foi expressa em Unidades Hounsfield (UH). **Resultados:** Foram avaliados 50 pacientes assintomáticos,  $52 \pm 10$  anos, 68% homens, 30% diabéticos e com taxa de filtração glomerular estimada de  $34 \pm 16 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ . A porosidade cortical foi de 4,6% (3,6; 6,6) e a espessura cortical foi de  $578,4 \pm 151,8 \mu\text{m}$ . A densidade óssea cortical foi de 379,0 UH (344,7; 411,4). A densidade cortical não se correlacionou com a porosidade cortical ( $p = 0,67$ ) ou a espessura cortical ( $p = 0,32$ ). A porosidade se associou a maiores idades ( $p = 0,02$ ) e PTH ( $p = 0,04$ ), e a menor função renal ( $p = 0,03$ ). A menor espessura se associou ao maior nível de PTH ( $p = 0,02$ ). A menor densidade se associou a maiores idades ( $p = 0,02$ ) e PTH ( $p = 0,03$ ). **Conclusão:** A densidade cortical medida pela QCT não se associa a parâmetros histomorfométricos estruturais do osso cortical de pacientes nos estágios iniciais da DRC. Por outro lado, os distúrbios bioquímicos e hormonais do metabolismo mineral, presentes nessa fase da DRC, implicam alterações precoces do osso cortical, detectadas por ambos os métodos.

## ABSTRACT

There is scarce information regarding cortical compared to trabecular bone in chronic kidney disease (CKD). Bone biopsy is still the gold standard tool to evaluate both tissues, though it is an invasive and expensive method. In this context, the possibility of using a non-invasive technique, such as quantitative computed tomography of the vertebrae (QCT) is clinically relevant. The aim of this study was evaluated the relationship between vertebrae density measured by QCT and structural histomorphometric parameters of cortical bone in the early stages of CKD patients, as well as to evaluate the association of these parameters with biochemical and hormonal data in this population. This is a *post hoc* analysis of a cross-sectional study with 50 CKD stage 2-5ND patients undergone laboratory tests, QCT and bone biopsy. Undecalcified bone samples from iliac crest were analyzed by histomorphometry using the *Osteomeasure* software. The histomorphometric parameters analyzed were: cortical porosity (Ct.Po) and cortical thickness (Ct.Th). The cortical bone density, expressed in Hounsfield Units (HU), was obtained by QCT from the thoracic vertebrae. The patients were  $52 \pm 10$  years, 68% men, 30% diabetes and the estimated glomerular filtration rate  $34 \pm 16$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. Regarding cortical histomorphometric parameters, cortical porosity was 4.6% (3.6;6.6) and cortical thickness was  $578.4 \pm 151.8 \mu\text{m}$ . The cortical bone density was 379.0 HU (344.7;411.4). Cortical density did not correlate with either cortical porosity ( $p=0.67$ ) or cortical thickness ( $p=0.32$ ). The higher porosity was associated with older age ( $p = 0.02$ ) and higher levels of PTH ( $p = 0.04$ ), and lower renal function ( $p = 0.03$ ). The lower thickness was associated with higher levels of PTH ( $p = 0.02$ ). The lower density was associated with older age ( $p = 0.02$ ) and higher levels of PTH ( $p = 0.03$ ). In conclusion, cortical bone density measured by QCT is not associated with structural histomorphometric parameters of cortical bone of patients in the early stages of CKD. In contrast, the biochemical and hormonal disorders of mineral metabolism, present in this stage of CKD, result in early changes in the cortical bone, detected by both methods.

## 1 INTRODUÇÃO

O Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica (DMO-DRC) é uma síndrome clínica caracterizada pela presença de alterações do metabolismo mineral, ósseo e calcificações vasculares que se desenvolvem como complicações da doença renal crônica (DRC), em seus vários estágios (1). De acordo com o *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO), o termo osteodistrofia renal (ODR) deve ser usado para descrever exclusivamente as alterações ósseas histológicas associadas à DRC (1).

Pesquisas na área de ODR, historicamente, têm como foco o osso trabecular. O maior interesse por esse tipo de tecido ósseo se baseia no fato dele ser reconhecido como metabolicamente ativo e, portanto, com maior participação na homeostase mineral. Já o osso cortical ou compacto se caracteriza por ter uma função essencialmente mecânica. Recentemente, mais atenção tem sido dada na avaliação do osso cortical impulsionada pelo fato desse tecido corresponder ao maior percentual da massa óssea total e ser o sítio de maior perda óssea ao longo da vida. Além disso, é no osso cortical onde ocorrem 80% das fraturas (2,3).

Está bem estabelecido que a biópsia seguida de histomorfometria é o padrão-ouro para avaliação do tecido ósseo em paciente com DRC. A grande maioria dos estudos está voltada para o osso trabecular (4,5,6). Apesar da excelência da biópsia como método diagnóstico, métodos não invasivos, de menor custo e mais acessíveis, têm sido usados para avaliar as características do tecido ósseo (7,8). A tomografia computadorizada quantitativa (QCT) de vértebra é efetiva para avaliação do osso trabecular, tendo sido demonstrada uma associação entre densidade e volume ósseo trabecular, medidos pela QCT de vértebra, e os parâmetros da microarquitetura, obtidos pela histomorfometria óssea em pacientes dialíticos (9).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Estrutura e organização do tecido ósseo

O esqueleto humano é dividido em dois grupos, o axial e o apendicular. O esqueleto axial é composto pelos ossos do crânio, coluna vertebral e tórax e o apendicular formado pelos ossos dos membros inferiores e superiores, além da cintura escapular e pélvica. Os ossos se apresentam em várias formas e tamanhos de acordo com a demanda funcional de cada região. Quanto à forma, podem ser classificados como longos, curtos, chatos e irregulares. Macroscopicamente é possível identificar duas estruturas ósseas distintas, respectivamente, uma densa e sólida, o osso cortical, e outra composta por placas entremeadas, com aspecto em favo de mel, o osso trabecular. A proporção entre essas duas estruturas, em cada unidade óssea, difere conforme localização e função exercida por cada osso especificamente (3).

A superfície externa óssea é coberta por uma membrana com dupla camada, chamada de periósteo. A camada externa é fibrosa, composta por tecido conectivo e a camada interna é predominantemente celular composta por células osteocondroprogenitoras, fibroblastos e osteoblastos distribuídos em uma matriz colágena. A presença dessas células confere ao periósteo uma valiosa capacidade regenerativa para formação óssea após uma lesão. Encontramos ainda no periósteo, fibras nervosas, vasos linfáticos e sanguíneos. A segunda membrana presente na estrutura óssea é o endósteo, um delicado tecido conectivo, com presença de células osteoprogenitoras, que reveste o osso trabecular e os canais que atravessam o osso cortical (3,10).

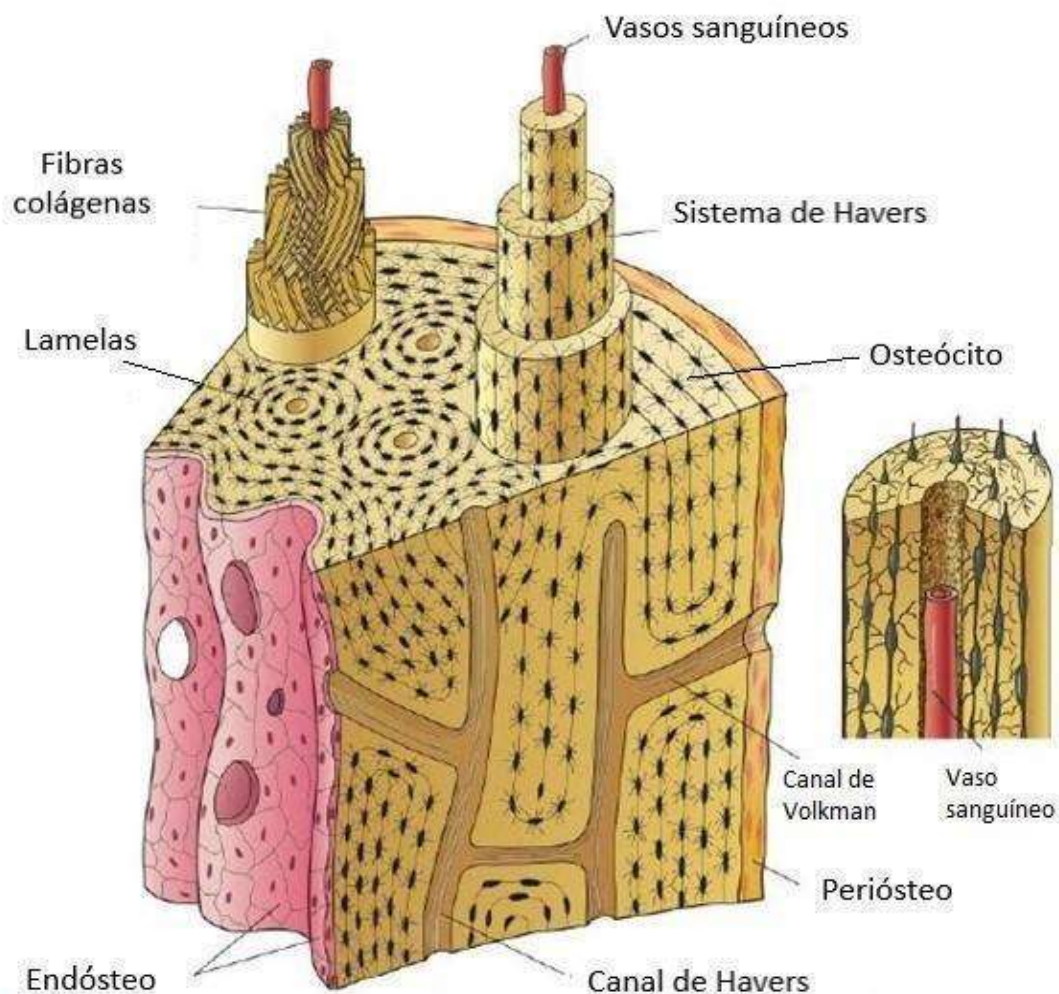
O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, composto microscopicamente por matriz mineralizada, matriz osteóide (não-mineralizada), e três tipos de células maduras envolvidas na remodelação óssea. Os osteócitos são células encontradas em lacunas no interior da matriz óssea, de onde partem canálculos preenchidos por prolongamentos dessas células. Os osteoblastos são as células que sintetizam o material orgânico da matriz óssea, participando da sua mineralização. Por último, os osteoclastos são células gigantes, multinucleadas e móveis que atuam na reabsorção do tecido ósseo (11).



### 2.1.1 Osso cortical

No adulto, o osso cortical representa 80% da massa óssea. Porém, devido a organização espacial compacta, o osso cortical apresenta menor área total ( $3,5 \text{ m}^2$ ) quando comparado ao trabecular ( $7 \text{ m}^2$ ). Essa estrutura é um dos fatores que faz com que o osso cortical contribua de forma importante para a resistência óssea (3).

No adulto, o tecido ósseo tem como característica a organização das fibras colágenas em lamelas de 3 a 7  $\mu\text{m}$  de espessura. No osso cortical a disposição dessas lamelas ocorre em camadas concêntricas, paralelas entre si, em torno de canais que servem de passagem para vasos e nervos, formando uma estrutura cilíndrica. Essa unidade estrutural é chamada de sistema de Havers ou ósteon. No centro dos ósteons há um canal revestido de endóstio, o canal de Havers, que possibilita a comunicação entre os ósteons, por canais transversais ou oblíquos, os canais de Volkmann. Os osteócitos encontram-se no interior de lacunas, localizadas entre as lamelas. Essas lacunas se comunicam através de canalículos preenchidos por um conteúdo líquido e pelos prolongamentos dos osteócitos, permitindo a comunicação entre eles (11,12,13). As fibras colágenas de uma lamela estão sempre na mesma direção, que é contrária à da lamela adjacente, de forma a ocorrer alternância de direcionamento, num arranjo que aumenta a resistência óssea à torção (Figura 1).



Fonte: adaptado de Junqueira (2017) (11).

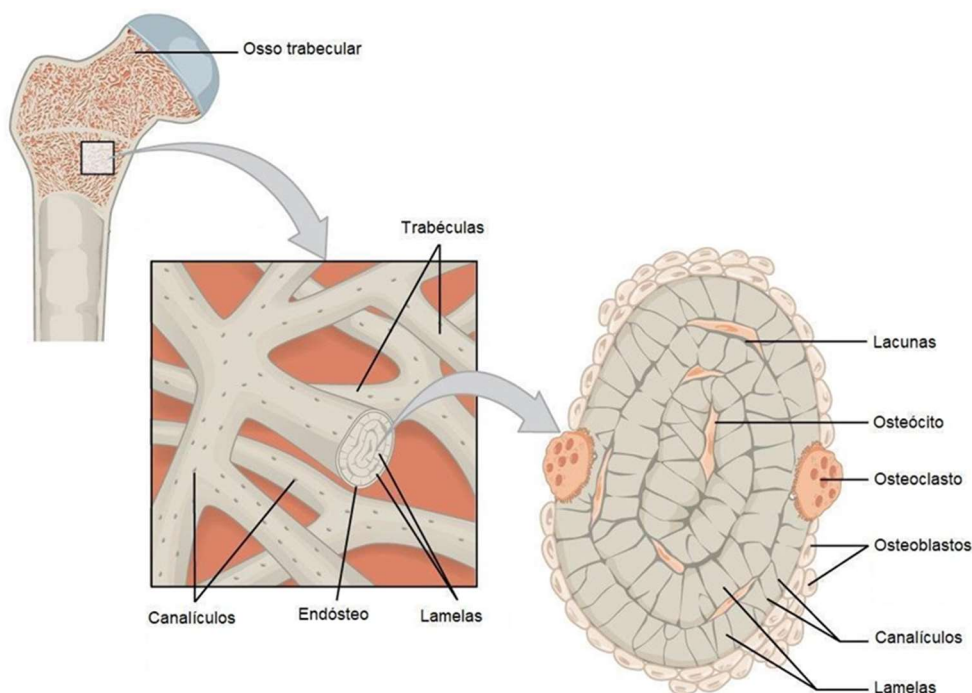
**Figura 1. Estrutura cortical dos ossos longos, com o sistema de Havers em três dimensões. À direita observa-se um sistema de Havers isolado, mostrando um capilar central e osteócitos em seu prolongamento**

Os canais de Havers e Volkmann, complexo de canais por onde circulam os vasos e nervos, conferem ao tecido cortical uma porosidade usualmente menor que 5%. Essa porosidade cortical varia de acordo com a atividade de remodelação óssea e seu aumento pode ser consequência tanto do aumento do diâmetro, quanto do número de canais. Fisiologicamente o número de canais aumenta com a idade, nos adultos jovens, e a expansão do diâmetro dos canais é mais comumente encontrada com o avanço da idade (3,14,15). A escavação da matriz óssea alarga os canais focalmente e dá origem a poros coalescentes, irregulares e de diâmetros variados. Em condições fisiológicas mais de 60% dos poros intracorticais têm diâmetro menor que 100  $\mu\text{m}$ . Outro parâmetro estrutural do osso cortical é a espessura, que depende principalmente da formação óssea a partir da região endocortical, podendo variar

substancialmente, de 1 a 10 mm de espessura, conforme a localização e função do osso avaliado (2,16,17, 18).

### 2.1.2 Osso trabecular

No osso trabecular as lamelas têm um arranjo paralelo formando estruturas conhecidas como *packets*. Os *packets* nada mais são que os ósteons do osso trabecular, porém com distribuição aleatória dentro das trabéculas ósseas. A maioria das trabéculas é fina (50-400  $\mu\text{m}$ ) e se dispõem segundo as linhas de força que atuam na região de sua localização, permitindo maior absorção de energia, tornando o osso resistente, porém leve. Os osteócitos estão presentes entre as lamelas, de forma semelhante ao que encontramos no osso cortical, porém os *packets* não apresentam canal central. Assim, por meio de difusão, os nutrientes alcançam os osteócitos, através dos canalículos, a partir dos capilares no endóstio presente ao redor das trabéculas (11,12,13) (Figura 2). Essa estrutura faz com que o osso trabecular contribua de forma importante para o metabolismo mineral (3).



Fonte: adaptado de OpenStax (2016) (19).

**Figura 2. Estrutura do osso trabecular com representação de corte transversal do *packet*.**

## 2.2 Fisiologia do tecido ósseo

As funções do esqueleto humano vão além do suporte estrutural e proteção aos órgãos. Esse sistema está envolvido com a manutenção da homeostase mineral, o balanço ácido básico, o abrigo da medula óssea, além da produção de citocinas, fatores de crescimento e hormônios, o que também confere a este tecido uma função endócrina (3,20,21).

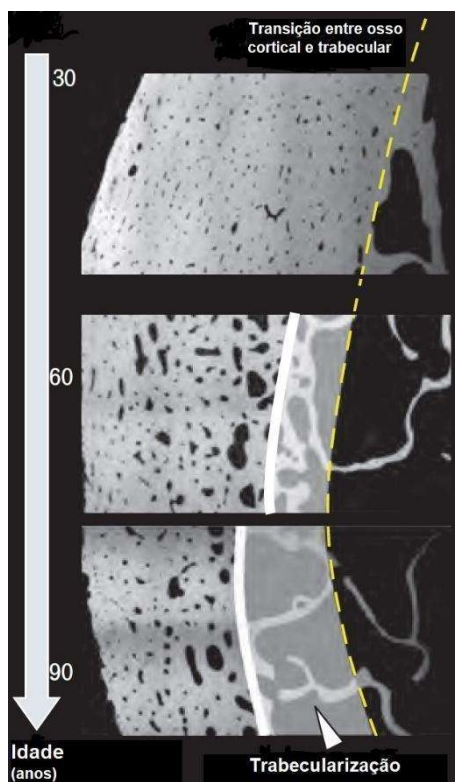
A remodelação óssea é o processo fisiológico de renovação do tecido ósseo que envolve as células osteoclásticas e osteoblásticas, trabalhando de forma antagônica, além dos osteócitos atuando na sinalização da necessidade de remodelação, através de sinais bioquímicos e quimiotáticos. A remodelação é composta por dois ciclos relacionados, reabsorção e formação, que ocorrem na região endocortical, intracortical e no osso trabecular. O início desse processo é desencadeado por sinalização produzida a partir da percepção de dano tecidual pelos osteócitos, ou pela apoptose dos mesmos, definindo assim a localização e extensão da reabsorção necessárias (2,12).

A reabsorção óssea tem o osteoclasto como célula efetora. A ativação de osteoclastos requer presença do fator de crescimento hematopoiético, do fator estimulante de colônias macrofágicas (M-CSF) e de um sinal de células do estroma da medula. A molécula de superfície celular, conhecida como RANK-L, presente nos osteoblastos, interage com o receptor RANK, presente na superfície das células precursoras osteoclásticas na medula óssea. Essa interação, na presença de quantidade suficiente de M-CSF, promove a diferenciação e fusão dessas células para finalmente formar osteoclastos maduros, multinucleados e móveis, com capacidade de reabsorver a matriz óssea mineralizada (22). Os osteoclastos ao chegarem na superfície óssea direcionam seus prolongamentos para a matriz óssea, delimitando um microambiente, que será acidificado através dos canais de cloro, por ação da bomba de próton ( $H^+$ -ATPase). O ambiente acidificado desmineraliza o osso, expondo a matriz orgânica rica em colágeno tipo I, que será posteriormente degradado pela enzima catepsina. A atividade dos osteoclastos é coordenada por citocinas e por hormônios como calcitonina e paratormônio (PTH). A reabsorção é então finalizada pela ação mecânica dos prolongamentos vilosos, irregulares, da membrana celular dos osteoclastos que estão voltados para a matriz óssea. A parte inorgânica dessa

matriz tem como principais íons o fosfato e o cálcio, que se organizam em cristais de hidroxiapatita. Há também presença de bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato em quantidades menores (11,22).

A formação óssea tem como célula efetora o osteoblasto. A diferenciação dos osteoblastos é orquestrada pela ação combinada de várias vias de transdução de sinais, ativadas por citocinas. Os osteoclastos produzem algumas dessas citocinas que recrutam progenitores osteoblásticos para a superfície óssea. Assim, a reabsorção é acoplada à formação com a finalidade de manutenção da massa óssea. Os osteoblastos maduros se alinham na superfície óssea e sintetizam colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas da matriz óssea. Nos estágios finais da diferenciação dos osteoblastos, essas células podem entrar em apoptose, converter-se em células de revestimento ou osteócitos. Os osteócitos são as principais células do tecido ósseo, sendo a linhagem osteoblasto/osteócito as células produtoras do fator de crescimento de fibroblasto 23 (FGF23). A matriz recém-sintetizada se deposita ao redor do corpo do osteócito e seus prolongamentos, formando assim as lacunas e os canalículos. A matriz não calcificada é chamada de osteóide e posteriormente será mineralizada pelo depósito de cálcio e hidroxiapatita (23,24).

A renovação óssea é contínua ao longo da vida, previne o acúmulo de microdanos e ocorre de forma similar, tanto no osso cortical, quanto no trabecular. Esse processo ocorre de forma balanceada, não altera a qualidade, geometria ou tamanho ósseo, mas contribui para manutenção da resistência óssea e homeostase mineral. Em adultos saudáveis, o osso cortical tem menor atividade metabólica, sendo sua remodelação relativamente baixa, comparada ao osso trabecular, mas adequada para manter a resistência óssea (3). Em indivíduos jovens, o balanço entre formação e reabsorção mantém a massa óssea estável enquanto, no envelhecimento, múltiplos fatores tais como alterações celulares, hormonais, perda muscular e redução de mobilidade, causam redução da remodelação e, conseqüentemente, da massa óssea. No osso cortical, isso se expressa pelo aumento da porosidade e redução da espessura (Figura 3), reduzindo sua resistência e aumentando o risco de fraturas (12,14,25). De fato, estudos que avaliaram, tanto vértebras, quanto colo de fêmur, observaram redução da espessura e aumento da porosidade do osso cortical com o envelhecimento, em populações de ambos os sexos, sem doença osteometabólica (18,26).



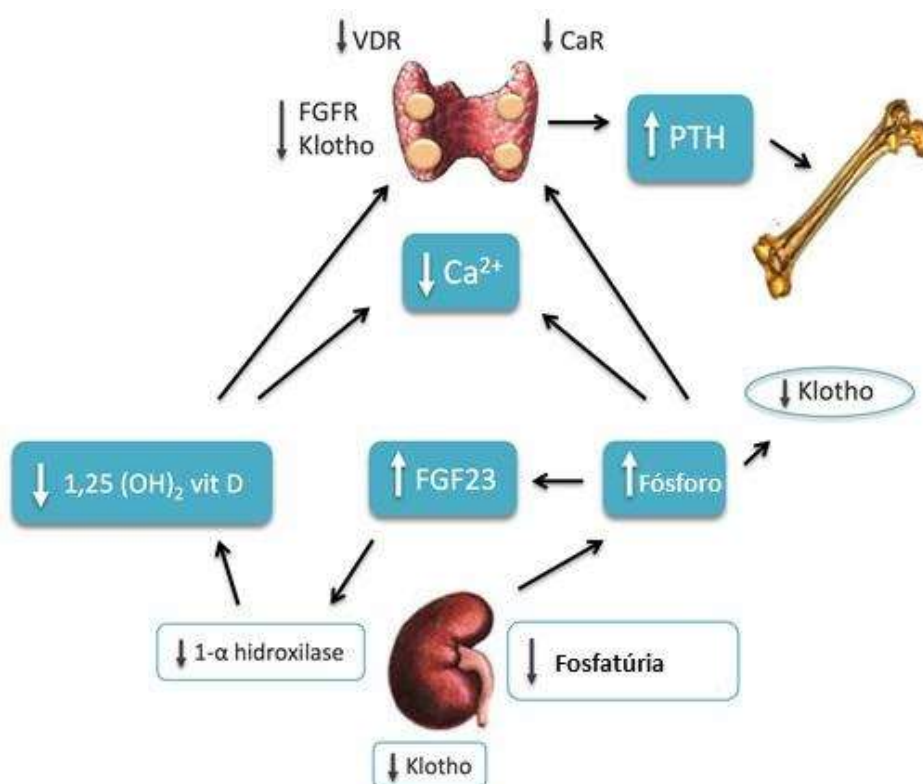
Fonte: adaptado de Bala (2015) (27).

**Figura 3. Aumento da porosidade e trabecularização da cortical com o envelhecimento.**

## 2.3 Alterações bioquímicas dos DMO-DRC

As alterações bioquímicas dos DMO-DRC compreendem as anormalidades do metabolismo do cálcio, fósforo, PTH e vitamina D (1). Dentre essas alterações resultantes da perda de função renal, uma das principais é a retenção de fósforo, que induz o aumento da secreção de dois hormônios fosfatúricos, o PTH e FGF23. Outra repercussão da disfunção renal é a redução dos níveis séricos de calcitriol, secundária à diminuição da massa renal e elevação do hormônio FGF23, que resulta em níveis baixos de calcitriol acarretando uma menor absorção intestinal de cálcio. Tanto a retenção de fósforo, como a tendência à hipocalcemia são estímulos à secreção de PTH. Outros fatores, não menos importantes, são as menores expressões dos receptores de cálcio e vitamina D nas paratireoides de pacientes com DRC. As ações do FGF23, mais precoce, e do PTH, mais tardia, são capazes de manter o nível sérico de fósforo e cálcio normais, nas fases iniciais da DRC. O FGF23 e seu co-receptor klotho também estão envolvidos no metabolismo do PTH. Nas fases iniciais da DRC,

o FGF23 inibe a secreção de PTH, enquanto, mais tardiamente, a redução da expressão de seu receptor e de klotho estimula indiretamente a secreção do PTH. Outro estímulo indireto para a secreção do PTH é a redução dos níveis de calcitriol, resultante da inibição da atividade da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase pelo FGF23. O resultado da soma dessas alterações é o estímulo crônico da secreção de PTH, caracterizando um estado de hiperparatireoidismo secundário (Figura 4) (28, 29, 30, 31).



Fonte: Adaptado de KDIGO CKD-MBD Quick reference guide, 2017 (32).

**Figura 4. Alterações no metabolismo mineral e ósseo na Doença Renal Crônica.**

## 2.4 Osteodistrofia renal (ODR)

O conjunto de lesões histológicas ósseas, diagnosticadas por biópsia do osso trabecular, e decorrentes da DRC, é denominado de ODR. A ODR possui um amplo espectro de apresentação, que se divide em doenças de alta [doença óssea relacionada ao hiperparatireoidismo secundário (HPTS) e doença mista] e de baixa remodelação óssea [doença óssea adinâmica (DOA) e osteomalácia]. Para esses diagnósticos histológicos, a histomorfometria óssea é o método de mensuração que

fornece, de maneira geral, informações a respeito da taxa de formação, mineralização e volume ósseos, parâmetros que serão descritos detalhadamente no item 2.4.2. O KDIGO (1) recomendou a utilização de um sistema de classificação da ODR, o TMV [remodelação (do inglês, *turnover*), mineralização e volume], referendado pela American Society for Bone and Mineral Research (33), para facilitar a interpretação dos achados histológicos pelo nefrologista. No sistema TMV, a remodelação óssea pode estar alta, normal ou baixa, a mineralização normal ou anormal e o volume ósseo normal ou baixo (33). Portanto, o sistema TMV, além de fornecer o *status* do metabolismo ósseo, pode sugerir o diagnóstico histológico da ODR.

A osteíte fibrosa, ou doença óssea relacionada ao HPTS, é caracterizada por apresentar taxa de formação óssea alta, aumento do número de osteoblastos e osteoclastos, mineralização normal e fibrose medular. Na doença mista encontramos alterações características da osteíte fibrosa, associadas a um defeito de mineralização. Já a osteomalácia, apresenta uma baixa taxa de formação óssea e se caracteriza por aumento da quantidade de matriz osteóide, associada a um grave defeito de mineralização. A celularidade e fibrose medular são variáveis, podendo ser altas, na osteomalácia por deficiência de vitamina D e baixas ou ausentes, naquela decorrente da intoxicação pelo alumínio. Por último, a DOA, que além da taxa de formação óssea bastante reduzida, se difere da osteomalácia pela pouca quantidade de matriz osteóide. A celularidade e fibrose medular neste tipo de ODR são bastante baixas ou até mesmo ausentes. (3,31,34,35).

Pelo fato do diagnóstico da ODR ser baseado em parâmetros histomorfométricos do osso trabecular, historicamente, menor atenção foi dada ao osso cortical. Na última década, as alterações no osso cortical vêm ganhando destaque na literatura. Porém, apesar do aumento no interesse por esse tecido, estudos com biópsia óssea, que descrevam o osso cortical ainda são raros na população com DRC (36,37,38).

No osso cortical, na presença de doenças de alta remodelação, é observado o aumento de sítios com remodelação ativa, com consequente comprometimento de sua microarquitetura. Esse comprometimento se caracteriza pelo aumento da porosidade e redução da espessura do osso cortical, como já mostrado em estudos com biópsia óssea (37,38,39). Essas alterações comprometem as propriedades mecânicas do osso cortical, contribuindo para o aumento da sua fragilidade e do risco



de fraturas na população com DRC (40). Nas doenças de baixa remodelação a capacidade de reparação óssea está reduzida, com consequente acúmulo de microfraturas e perda de resistência (3,34,35). No entanto, estudos com biópsia óssea que descrevem o osso cortical nas doenças de baixa remodelação são raros em pacientes com DRC, principalmente naqueles em tratamento conservador.

## **2.5 Avaliação do osso cortical**

### **2.5.1 Método de imagem**

Existem dois desafios no estudo não invasivo das características fisiológicas e patológicas do osso cortical. O primeiro é adquirir imagens de alta resolução da macro e microestrutura óssea. O segundo é a dificuldade em quantificar as características determinantes da quantidade e qualidade ósseas com precisão e reprodutibilidade (16).

#### *Densitometria óssea*

A densitometria óssea é um método diagnóstico que permite obter projeção bidimensional, de uma área definida, fornecendo a medida de densidade mineral óssea por área (aBMD), parâmetro que tem sido amplamente usado para diagnóstico de osteoporose como preditor de fratura óssea (2). No entanto, a densitometria subestima o risco de fraturas em indivíduos sem o diagnóstico de osteoporose, como aqueles com osteopenia (41). Duas características podem explicar essa limitação, sendo elas, a impossibilidade de obtenção de medidas tridimensionais da microarquitetura óssea e a não distinção entre osso trabecular e cortical. Essas condições não permitem que a avaliação da morfologia e porosidade cortical seja realizada e é de conhecimento amplo que estes são fatores biomecânicos importantes para avaliação de resistência óssea, independente da aBMD (42).

### *Tomografia computadorizada (TC)*

A TC é uma técnica baseada em raios-X que fornece uma distribuição espacial do coeficiente de absorção de raios-X medido em unidade de Hounsfield (UH). A TC quantitativa (QCT) converte as medidas realizadas em UH em BMD volumétrico (vBMD), por uma técnica de calibração do scanner de TC, usando como referência fantasmas sólidos de densidade conhecida, como por exemplo, os de hidroxiapatita de cálcio (43). A QCT é um método diagnóstico que obtém imagens tridimensionais e possibilita o estudo do osso cortical e trabecular de forma independente. Formalmente, o uso desta técnica pode ser aplicado em imagens de tomografias obtidas com outra finalidade clínica que não a da avaliação óssea (2,44). Hangartner e col. (45), em um estudo com indivíduos saudáveis, mostraram a possibilidade de medir de forma acurada a densidade óssea cortical a partir do uso de TC de fêmur e rádio. A medida da densidade óssea pelo vBMD é a base para avaliação da estrutura trabecular e porosidade cortical, e pode superar as limitações do uso da aBMD na avaliação da qualidade óssea (2,46).

A QCT tem limitação de resolução em relação ao voxel (volume formado pelo pixel e pela profundidade do corte) na ordem de 250  $\mu\text{m}$  ou superior, o que impede a medida dos poros de forma direta. Uma abordagem para contornar a limitação espacial da QCT para o estudo do osso cortical é traduzir a densidade cortical em porosidade (2). A porosidade cortical é provavelmente a principal responsável pela variação do vBMD, como demonstrado por Bousson e col. (47), em um estudo *ex vivo*. Ahmed e col. (48), mostraram em estudo *in vivo* que a porosidade cortical é um fator de risco de fratura independente da aBMD.

Uma outra forma de se obter a QCT é a tomografia computadorizada periférica (pQCT). A pQCT tem sido amplamente usada em pesquisas com seres humanos, avaliando regiões periféricas, geralmente tíbia e rádio. Este exame proporciona medidas da densidade volumétrica, área transversal e a estimativa da resistência óssea (2). Assim como a QCT, a pQCT também não obtém medida direta da porosidade cortical, porém permite a análise regional de variação do vBMD cortical, como mostrada por Rantalainen e col. (49), em um estudo em que se detectou variações regionais de vBMD de tíbia, propondo que esse método possa ser utilizado como ferramenta para estimar a porosidade cortical.

### *Tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução*

A tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) é uma nova geração de método de imagem, que surgiu a partir de 2004, com capacidade de resolução *in vivo* superior a pQCT e com possibilidade de avaliação tridimensional da microarquitetura óssea de rádio e tíbia distais em seres humanos. Este método tem sido aplicado para quantificar a porosidade cortical, e é capaz de detectar poros corticais  $\geq 100 \mu\text{m}$ . Porém, tem o uso clínico limitado pelo alto custo e baixa disponibilidade para sua realização (2). Vale ressaltar, que outro método, anterior a HR-pQCT, a microtomografia (Micro-CT), permite a medida direta dos poros (50). No entanto, ela só permite estudos em amostras de tecido ósseo *ex vivo* ou, se *in vivo*, em pequenos roedores. Estudos que compararam Micro-CT com a HR-pQCT mostraram uma forte correlação entre esses métodos na identificação da porosidade cortical (51,52). A tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) é uma nova geração de método de imagem, que surgiu a partir de 2004, com capacidade de resolução *in vivo* superior a pQCT e com possibilidade de avaliação tridimensional da microarquitetura óssea de rádio e tíbia distais em seres humanos. Este método tem sido aplicado para quantificar a porosidade cortical, e é capaz de detectar poros corticais  $\geq 100 \mu\text{m}$ . Porém, tem o uso clínico limitado pelo alto custo e baixa disponibilidade para sua realização (2). Vale ressaltar, que outro método, anterior a HR-pQCT, a microtomografia (Micro-CT), permite a medida direta dos poros (50). No entanto, ela só permite estudos em amostras de tecido ósseo *ex vivo* ou, se *in vivo*, em pequenos roedores. Estudos que compararam Micro-CT com a HR-pQCT mostraram uma forte correlação entre esses métodos na identificação da porosidade cortical (51,52).

#### **2.5.2 Biópsia óssea**

O fragmento ósseo obtido pela biópsia, e incluído *in natura* em metilmetacrilato, possibilita o estudo do tecido mineralizado, não mineralizado, sua celularidade e a formação óssea através da histomorfometria. Essa técnica de mensuração das estruturas do tecido ósseo é uma ferramenta bem estabelecida para o estudo da etiologia, patogenia e os efeitos do tratamento de doenças do metabolismo ósseo. Na

DRC a biópsia óssea seguida da análise histomorfométrica é o método padrão ouro para diagnóstico e classificação da ODR, análise do grau de severidade e avaliação da resposta às intervenções terapêuticas. A histomorfometria também pode fornecer informações complementares do tecido ósseo como presença de intoxicação de alumínio ou ferro e avaliação do volume ósseo (1, 53). Dezenas de medidas e cálculos são possíveis pela histomorfometria, compreendendo parâmetros estruturais e dinâmicos, com nomenclatura aprovada pela *American Society of Bone and Mineral Research* (5).

A avaliação do osso cortical pela histomorfometria inclui basicamente dois parâmetros estruturais, a espessura (Ct.Th,  $\mu\text{m}$ ) e a porosidade (Ct.Po,%). Já é bem estabelecido que esses parâmetros da microarquitetura cortical, em especial a Ct.Po, estão relacionados à resistência óssea (1,16,17). Alguns autores confirmaram que o aumento da porosidade se associa à redução da resistência óssea (54,55,56). Além disso, Bjørnerem e col. (57) mostraram que o aumento da porosidade e diminuição da espessura do osso cortical determinam a fragilidade óssea e aumentam o risco de fratura não vertebral. Até o momento não há referência quanto à mensuração de parâmetros dinâmicos do osso cortical.

Os parâmetros estruturais do osso trabecular são em maior número e entre os principais estão: volume ósseo trabecular (BV/TV, %), espessura trabecular (Tb.Th,  $\mu\text{m}$ ), separação trabecular (Tb.Sp, mm), número de trabéculas (Tb.N, /mm), volume osteóide (OV/BV, %), superfície osteóide (OS/BS, %), superfície osteoblástica (Ob.S/BS, %), espessura osteóide (O.Th,  $\mu\text{m}$ ), superfície de reabsorção (ES/BS, %), superfície osteoclástica (Oc.S/BS, %) e volume de fibrose (Fb.V/BV, %) (1,16,17,58). Os parâmetros dinâmicos, aqueles que exigem uma marcação pela tetraciclina, previamente à biópsia óssea são: superfície de mineralização (MS/BS, %), taxa de aposição mineral (MAR,  $\mu\text{m}/\text{dia}$ ), frequência de ativação (Ac.f, N/ano), taxa de formação óssea (BFR/BS,  $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{dia}$ ), taxa de formação óssea ajustada (Aj.AR,  $\mu\text{m}/\text{dia}$ ) e intervalo de tempo para mineralização (Mlt, dias) (1,16,17,58,59). O local preferencialmente escolhido para as biópsias ósseas é a crista ilíaca por ser anatomicamente seguro e conveniente. Porém, embora a histomorfometria permaneça como padrão-ouro na avaliação da mineralização óssea e remodelação, seu uso para estudo de outras características ósseas pode ser limitado. Essa limitação

ocorre pelo fato de a região biopsiada não representar o esqueleto de forma global e a biópsia não ser o melhor método para avaliar o volume ósseo (20).

Em resumo, a biópsia óssea associada à histomorfometria tem alta especificidade e sensibilidade para diagnosticar doenças ósseas incluindo a ODR, possibilita estudo do osso cortical e trabecular separadamente, além de fornecer informações sobre mineralização e remodelamento ósseo. Como desvantagens, é um procedimento invasivo, pouco acessível e de alto custo, não avalia densidade óssea e a informação estrutural pode se limitar à região biopsiada. Dessa forma, métodos menos invasivos, mais acessíveis e de menor custos precisam ser avaliados no sentido de fornecer dados precisos, especialmente para o osso cortical.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Primário**

Investigar a relação entre densidade do osso cortical medido pela tomografia computadorizada de vértebra (QCT) e parâmetros estruturais obtidos pela análise histomorfométrica do osso cortical de pacientes com DRC em tratamento conservador.

#### **3.2 Secundário**

Avaliar a associação de parâmetros bioquímicos e hormonais com os parâmetros do osso cortical obtidos QCT e biópsia óssea nessa população

## 4 MÉTODOS

### 4.1 Pacientes e protocolo de estudo

Este estudo é uma análise *post hoc* de dados coletados em estudo transversal, com o objetivo de avaliar a associação entre calcificação coronariana e parâmetros histomorfométricos da biópsia óssea, previamente publicado (60). O estudo envolveu 50 pacientes com DRC, em tratamento conservador, acompanhados no Ambulatório de Uremia, da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, por pelo menos 3 meses.

Conforme previamente descrito na metodologia do estudo anterior, os pacientes selecionados eram assintomáticos, apresentavam idade entre 18 e 70 anos, e taxa de filtração glomerular estimada avaliada pela equação CKD-EPI, entre 12 a 76 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, não tinham doenças infecciosas, inflamatórias ou neoplásicas e não estavam em uso de quelantes de fósforo, análogos da vitamina D, bisfosfonatos ou corticosteroides.

Os pacientes selecionados foram submetidos à avaliação clínica e física, além de terem realizados, concomitantemente, exames laboratoriais, tomografia computadorizada de coronárias e biópsia óssea. Todos esses testes foram realizados dentro de 30 dias após a seleção dos pacientes e todos os pacientes assinaram termo de consentimento informado.

O presente estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética da Unifesp (n. 1855693).

### 4.2 Densidade do osso cortical vertebral

A tomografia computadorizada das coronárias realizada no estudo original, possibilitou a visualização das vértebras torácicas que, puderam assim, ser analisadas. As imagens da QCT de vértebra foram avaliadas com o programa Image J (*Image J* 1.49v, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2016). Uma imagem DICOM (16 bits) de um corte axial do corpo vertebral ao nível da raiz da aorta foi selecionada (figura 5A), com janela e nível ajustados para a melhor visualização do osso cortical do corpo vertebral. Esta imagem foi convertida em outra

de 8 bits, o que permitiu a sua transformação em uma imagem binária e a criação de uma máscara para a região cortical através do delineamento automático desta camada do tecido ósseo (figura 5B), utilizando-se a função *threshold*, com algoritmo Niblack e radius 4. Esta máscara foi então sobreposta na imagem original (DICOM 16 bits) e a densidade óssea cortical foi medida automaticamente (figura 5C). A densidade óssea cortical foi expressa em Unidades Hounsfield (UH).



Figura 5. Imagens da QCT de vértebra. (A) corte axial do corpo vertebral, (B) delimitação da cortical em imagem binária, (C) delimitação da cortical em imagem original.

### 4.3 Biópsia óssea

Lâminas coradas por azul de toluidina de amostras ósseas não descalcificadas da crista ilíaca foram analisadas por microscopia óptica comum. Foi realizada avaliação da cortical externa e interna, usando uma lente objetiva com aumento de 4x. A análise histomorfométrica do osso cortical foi conduzida utilizando o programa *Osteomeasure* (*Osteometrics Inc.*, Atlanta, GA, USA). Os parâmetros histomorfométricos analisados foram aqueles definidos pela *American Society of Bone and Mineral Research*: porosidade cortical – Ct.Po (%) e espessura cortical – Ct.Th (µm) (4,5). A Ct.Po é a relação percentual da soma das áreas dos poros, pela área cortical total avaliada. A delimitação da superfície de cada poro foi realizada manualmente, com posterior cálculo automático do Ct.Po pelo *Osteomeasure*. A Ct.Th é a distância entre a superfície cortical externa e a superfície endocortical de transição com o osso trabecular. Após a delimitação manual dessas superfícies, a Ct.Th foi medida de forma automática pelo programa. Foram calculadas as médias dos valores de Ct.Th e Ct.Po, obtidos na cortical superior e inferior do fragmento ósseo, sendo



esses valores utilizados nas análises. A variabilidade interobservador foi realizada em uma amostra aleatória das biópsias, por dois observadores independentes, sendo seu valor menor que 1%.

#### 4.4 Testes laboratoriais

Os testes laboratoriais incluíram creatinina, bicarbonato, cálcio iônico, fósforo, fosfatase alcalina total, hormônio paratireoideiano intacto (PTHi), 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], 1,25-dihidroxi vitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D], fator de crescimento de fibroblasto 23 (FGF23) (ELISA Kainos Laboratories, Tokyo, Japan; referência  $28,9 \pm 1,1$  pg/mL) e klotho (ELISA assay, IBL America, MN, USA; referência 239-1266 pg/mL). A taxa de filtração glomerular foi estimada pela equação CKD-EPI (61) e os pacientes foram classificados de acordo com os estágios da DRC (62).

#### 4.5 Análise estatística

Média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartil ou frequência foram calculados para todas as variáveis. Associações univariadas foram analisadas pelo teste de Pearson usando transformação de log para as variáveis não paramétricas.

Para se avaliar os efeitos das variáveis bioquímicas sobre cada um dos tercís das variáveis dependentes, porosidade (Ct.Po), espessura (Ct.Th) e densidade cortical, foi realizado um teste ANOVA e, quando apropriado, uma análise *post-hoc*, aplicando-se o teste de Bonferroni. A seguir empregou-se o modelo de regressão multinomial, que corresponde a uma generalização da regressão logística para respostas politômicas, ajustada pela função renal. Para tal, foi selecionada como categoria de referência o tercil das variáveis que representavam a melhor condição clínica. Assim, para porosidade foi selecionado o primeiro tercil e, para espessura e densidade, os terceiros tercís. As análises foram realizadas incorporando-se informações da estrutura do plano amostral, sendo utilizados os *softwares* estatísticos SPSS 20 (módulo “Complex Samples”) e STATA 12. Para todos os testes estatísticos foi adotado um nível de significância de 5%.

## 5 RESULTADOS

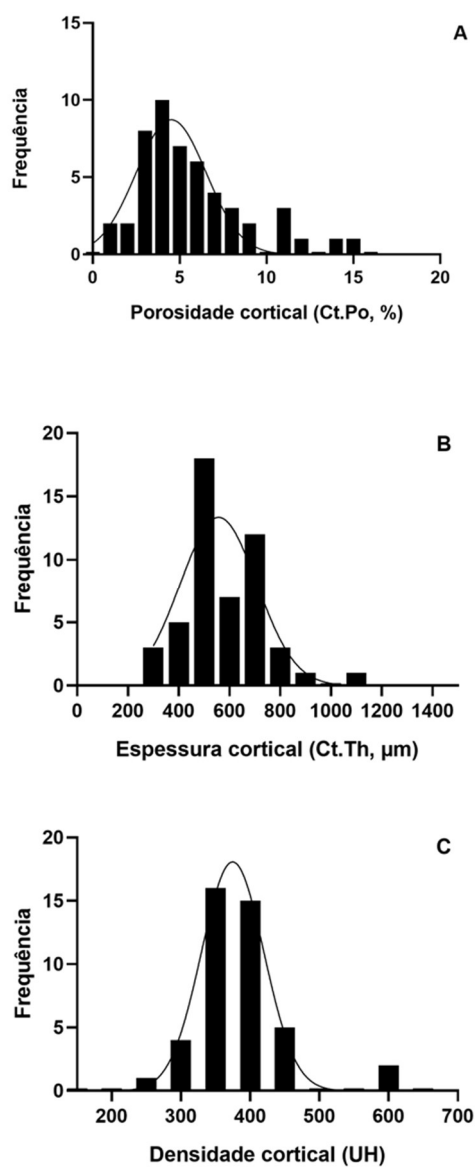
Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos 50 pacientes avaliados neste estudo são mostrados na Tabela 1. Os pacientes eram predominantemente homens jovens e hipertensão e diabetes eram as principais causas de DRC. Sobrepeso ou obesidade ( $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) estavam presentes em 27 (54%) pacientes. De acordo com a classificação de DRC (62), 5 pacientes (10%) estavam no estágio 2, 7 (14%) no estágio 3a, 17 (34%) no estágio 3b, 17 (34%) no estágio 4 e 4 (8%) no estágio 5. Bicarbonato sérico e parâmetros minerais ósseos estavam dentro das taxas normais, exceto o PTHi e o FGF23 que estavam acima, e Klotho, abaixo dos valores de referência, respectivamente.

**Tabela 1. Características Clínicas e Demográficas (n=50)**

Idade (anos)	52 ± 10
Homens n (%)	34 (68)
Etiologia DRC n (%)	
Hipertensão	20 (40)
Diabetes	15 (30)
Outros	15 (30)
Índice de massa corporal ( $\text{kg/m}^2$ )	26,2 ± 4,3
TFGe ( $\text{mL/min/1,73m}^2$ )	34 ± 16
Bicarbonato ( $\text{mEq/L}$ )	24 ± 3
FGF23 ( $\text{pg/mL}$ )	49,6 (25,6 - 83,8)
Klotho ( $\text{pg/mL}$ )	57,2 (17,4 - 88,8)
Cálcio iônico ( $\text{mmol/L}$ )	1,30 ± 0,06
Fósforo ( $\text{mg/dL}$ )	3,8 ± 0,7
Fosfatase alcalina ( $\text{U/L}$ )	116 (71,5 - 160,5)
PTHi ( $\text{pg/mL}$ )	83 (53,5 - 167,5)
25(OH)D ( $\text{ng/mL}$ )	30,8 ± 10,1
1,25(OH) <sub>2</sub> D ( $\text{pg/mL}$ )	35,8 (30 - 47,5)

Nota: Média ± desvio padrão, mediana (interquartis), número (percentual), Doença renal crônica (DRC), TFGe (taxa de filtração glomerular estimada pelo CKD-EPI), FGF23 (fator de crescimento de fibroblasto 23), PTHi (hormônio paratireoidiano intacto), 25(OH)D (calcidiol) e 1,25(OH)<sub>2</sub>D (calcitriol)

A histomorfometria óssea mostrou a porosidade cortical (Ct.Po) de 4,6% (3,6 - 6,6) e a espessura cortical (Ct.Th) de  $578,4 \pm 151,8 \mu\text{m}$ . Na tomografia vertebral, a densidade cortical foi de 379,0 UH (344,7 - 411,4). As frequências de distribuição dessas variáveis na população estudada são mostradas nas Figuras 6A, 6B e 6C.



**Figura 6.** Frequências de distribuição da porosidade (A), espessura (B) e densidade (C) corticais.

Na Tabela 2 são apresentadas as correlações de porosidade, espessura e densidade cortical, entre si. Não se observou correlação significativa entre essas variáveis (Figura 7A, 7B e 7C).

**Tabela 2. Correlação entre os parâmetros do osso cortical**

	Porosidade (Ct.Po)		Espessura (Ct.Th)		Densidade	
	r	p	r	p	r	p
Ct.Po (%)	-	-	-0,02	0,87	-0,07	0,67
Ct.Th ( $\mu\text{m}$ )	-0,02	0,87	-	-	0,16	0,32
Densidade (UH)	-0,07	0,67	0,16	0,32	-	-

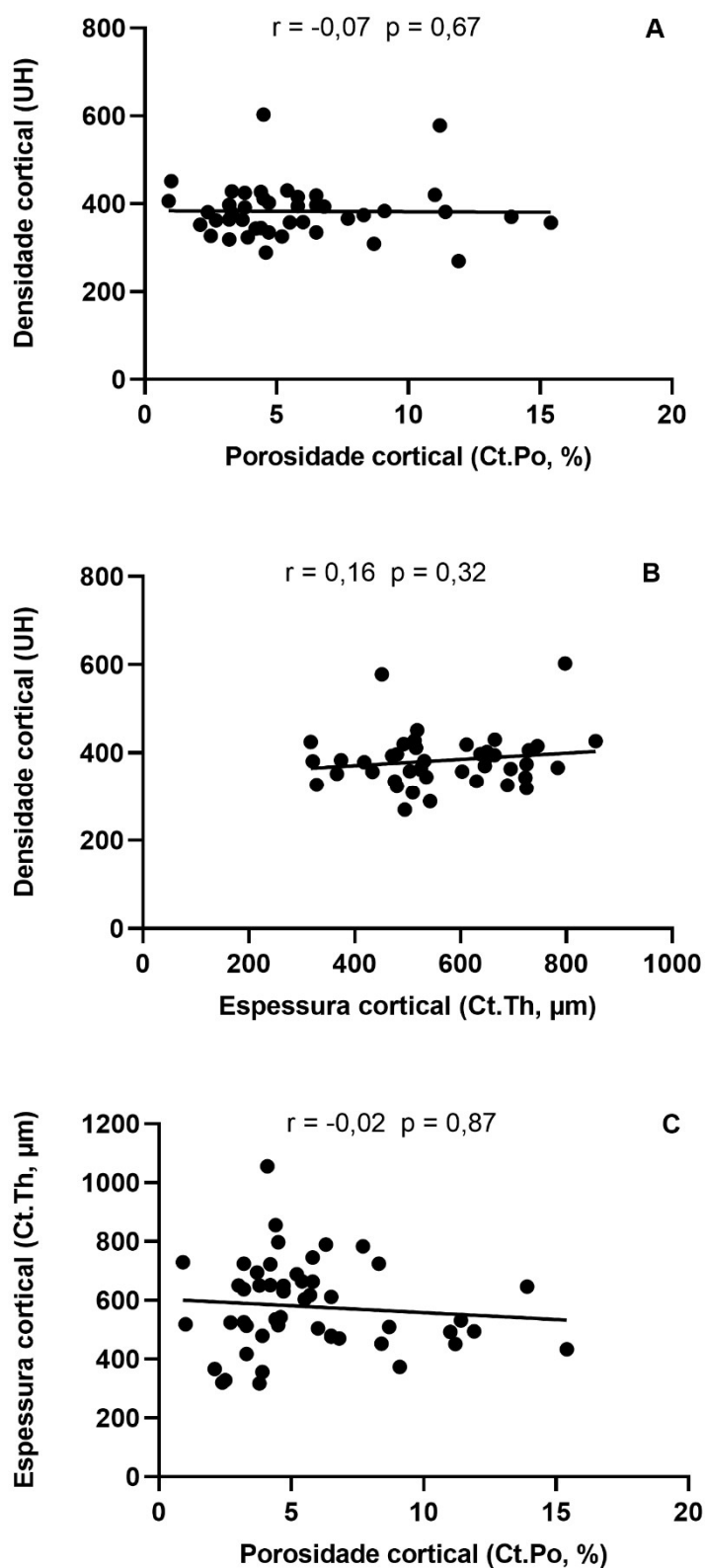


Figura 7. Correlação entre a porosidade e densidade (A), espessura e densidade (B) e porosidade e espessura corticais (C).

Na Tabela 3 são apresentadas as correlações de porosidade, espessura e densidade cortical com as variáveis clínicas e laboratoriais.

**Tabela 3. Correlação entre os parâmetros do osso cortical e variáveis clínicas e laboratoriais**

	Porosidade (Ct.Po)		Espessura (Ct.Th)		Densidade	
	r	p	r	p	r	p
Idade (anos)	0,32	<b>0,02</b>	-0,19	0,19	-0,05	0,74
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	0,05	0,73	0,08	0,59	-0,07	0,68
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,31	<b>0,03</b>	0,23	0,11	0,18	0,25
Bicarbonato (mEq/L)	-0,11	0,46	0,05	0,74	0,09	0,57
FGF23 (pg/mL)	0,29	0,05	0,02	0,88	-0,05	0,74
Klotho (pg/mL)	-0,23	0,20	0,09	0,63	0,22	0,23
Cálcio iônico (mmol/L)	-0,16	0,27	0,33	<b>0,02</b>	0,29	0,06
Fósforo (mg/dL)	0,24	0,09	-0,10	0,49	-0,46	<b>&lt;0,01</b>
Fosfatase alcalina (U/L)	0,21	0,14	-0,09	0,54	-0,18	0,24
PTHi (pg/mL)	0,28	0,05	-0,22	0,13	-0,28	0,07
25(OH)D (ng/mL)	-0,26	0,06	0,13	0,37	0,06	0,72
1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	-0,07	0,64	0,06	0,70	-0,06	0,71

Nota: TFGe (taxa de filtração glomerular estimada pelo CKD-EPI), FGF23 (fator de crescimento de fibroblasto 23), PTHi (hormônio paratireoidiano intacto), 25(OH)D (calcidiol) e 1,25(OH)<sub>2</sub>D (calcitriol)

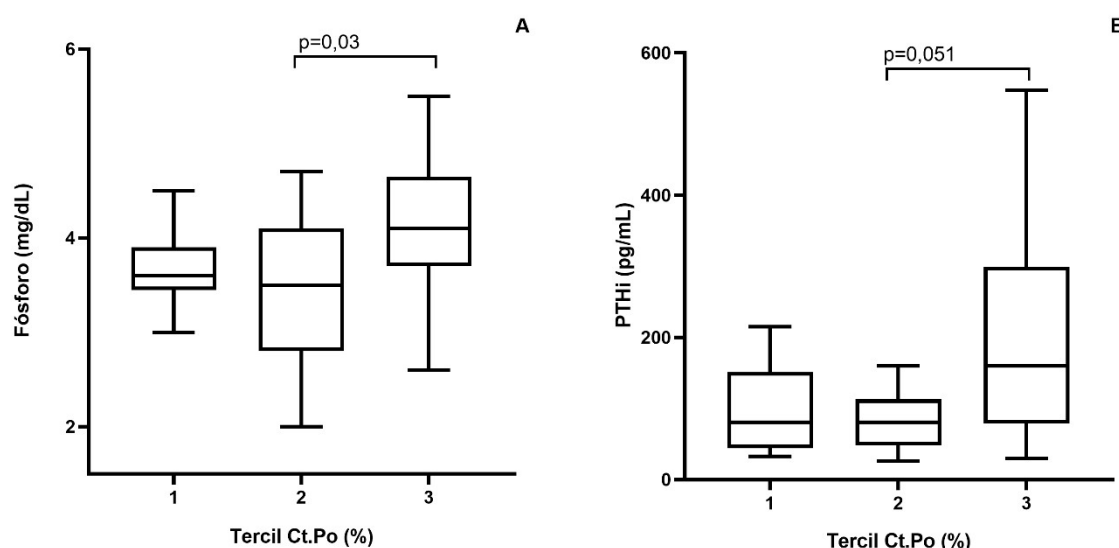
A porosidade cortical se correlacionou positivamente com idade e, negativamente, com a TFGe. Houve tendência à correlação positiva com fósforo, FGF23, PTHi e negativa com calcidiol. A espessura cortical se correlacionou positivamente com cálcio. A densidade cortical se correlacionou negativamente com fósforo, e houve tendência à correlação positiva com cálcio e negativa com PTHi. Não houve diferença entre os sexos para porosidade cortical (p=0,76), espessura (p=0,15) e densidade (p=0,92).

Foi realizada uma análise complementar da relação entre os tercís (tercís 1, 2 e 3, em ordem crescente de grandeza) das variáveis do osso cortical (porosidade, espessura e densidade) e os parâmetros clínicos e laboratoriais. Considerando-se a porosidade (Tabela 4), o fósforo foi significativamente maior no terceiro, quando comparado ao segundo tercíl (p=0,03; Figura 8A). Já o PTHi apresentou uma tendência a ser maior no terceiro, quando comparado ao segundo tercíl (p=0,051; Figura 8B). A análise multivariada não identificou nenhuma variável independente associada à porosidade cortical (Tabela 5).

**Tabela 4. Relação entre porosidade cortical (Ct.Po) e parâmetros clínicos e laboratoriais**

	Tercil 1	Tercil 2	Tercil 3	p
Idade (anos)	50,53 ± 12,01	50,69 ± 10,18	54,71 ± 8,57	0,42
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,81 ± 3,34	26,51 ± 4,05	27,42 ± 5,08	0,20
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	34,82 ± 15,27	40,06 ± 17,09	28,27 ± 15,53	0,12
Bicarbonato (mEq/L)	24,36 ± 1,95	24,59 ± 3,40	23,12 ± 2,82	0,27
FGF23 (pg/mL)	55,63 ± 49,76	51,96 ± 25,14	80,99 ± 77,68	0,29
Klotho (pg/mL)	61,65 ± 40,20	114,73 ± 166,27	55,15 ± 38,90	0,64
Cálcio iônico (mmol/L)	1,30 ± 0,06	1,32 ± 0,04	1,28 ± 0,06	0,12
Fósforo (mg/dL)	3,74 ± 0,58	3,49 ± 0,83	4,13 ± 0,66	<b>0,04</b>
Fosfatase alcalina (U/L)	135,12 ± 105,90	123,94 ± 51,67	152,94 ± 134,56	0,80
PTHi (pg/mL)	118,76 ± 101,06	98,81 ± 91,77	207,00 ± 158,87	<b>0,04</b>
25(OH)D (ng/mL)	33,18 ± 10,61	32,69 ± 6,47	26,65 ± 11,61	0,11
1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	40,09 ± 13,33	40,09 ± 19,89	39,41 ± 18,14	0,82

Nota: IMC (Índice de massa corporal), TFGe (taxa de filtração glomerular estimada pelo CKD-EPI), FGF23 (fator de crescimento de fibroblasto 23), PTHi (hormônio paratireoidiano intacto), 25(OH)D (calcidiol) e 1,25(OH)<sub>2</sub>D (calcitriol)

**Figura 8. Relação entre tercís de porosidade cortical com fósforo (A) e PTHi (B).****Tabela 5. Análise multivariada para tercís de porosidade cortical (Ct.Po)**

Referência Tercil 1					
	Tercil 2		Tercil 3		p global
	RC ajustada (IC95%)	p	RC ajustada (IC95%)	p	
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	0,98 (0,92 - 1,04)	0,65	1,00 (0,94 - 1,06)	0,86	0,90
Fósforo (mg/dL)	0,65 (0,19 - 2,22)	0,50	1,60 (0,44 - 5,77)	0,47	0,44
PTHi (pg/mL)	1,00 (0,99 - 1,00)	0,96	1,00 (0,99 - 1,01)	0,27	0,47

Nota: TFGe (estimada pelo CKD-EPI) e PTHi (hormônio paratireoidiano intacto)

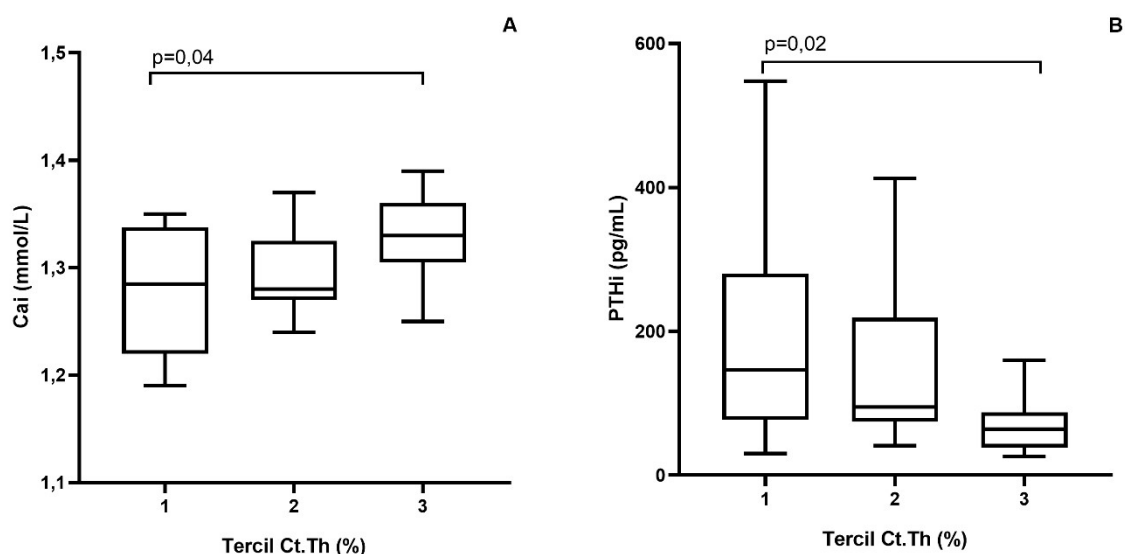
Considerando-se a espessura, foi observada uma diferença na concentração de cálcio e PTHi (Tabela 6). O cálcio foi significativamente maior no terceiro quando comparado ao primeiro tercil ( $p=0,04$ ; Figura 9A). Já o PTHi foi significativamente

menor no terceiro quando comparado ao primeiro tercil ( $p=0,02$ ; Figura 9B). A análise multivariada não identificou nenhuma variável independente associada à espessura cortical (Tabela 7).

**Tabela 6. Relação entre espessura cortical (Ct.Th) e parâmetros clínicos e laboratoriais**

Tercil	Tercil 1	Tercil 2	Tercil 3	p
Idade (anos)	54,69 ± 9,27	50,53 ± 11,57	50,94 ± 10,08	0,46
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,99 ± 3,18	27,08 ± 5,87	25,64 ± 3,30	0,60
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	29,98 ± 15,77	32,47 ± 14,78	40,12 ± 17,62	0,18
Bicarbonato (mEq/L)	23,30 ± 2,17	25,17 ± 2,85	23,52 ± 3,03	0,10
FGF23 (pg/mL)	63,93 ± 49,77	62,02 ± 78,47	61,36 ± 31,59	0,55
Klotho (pg/mL)	59,51 ± 35,61	60,37 ± 58,35	104,30 ± 150,48	0,60
Cálcio iônico (mmol/L)	1,28 ± 0,06	1,29 ± 0,07	1,33 ± 0,04	<b>0,03</b>
Fósforo (mg/dL)	3,91 ± 0,47	3,82 ± 0,89	3,65 ± 0,77	0,59
Fosfatase alcalina (U/L)	156,63 ± 139,44	126,59 ± 96,67	130,71 ± 64,01	0,69
PTHi (pg/mL)	182,38 ± 137,67	159,76 ± 137,40	87,35 ± 92,15	<b>0,02</b>
25(OH)D (ng/mL)	27,86 ± 12,91	30,45 ± 9,03	33,92 ± 7,60	0,23
1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	33,57 ± 9,28	41,93 ± 23,43	43,71 ± 17,84	0,38

Nota: IMC (Índice de Massa corporal), TFGe (estimada pelo CKD-EPI), FGF23 (fator de crescimento de fibroblasto 23), PTHi (hormônio paratireoidiano intacto), 25 (OH)D (calcidiol) e 1,25(OH)<sub>2</sub>D (calcitriol)



**Figura 9. Relação entre tercís de espessura cortical (Ct.Th) com cálcio iônico (A) e PTHi (B).**



**Tabela 7. Análise multivariada para tercil de espessura cortical (Ct.Th)**

	Referência Tercil 3				
	Tercil 1		Tercil 2		p global
	RC ajustada (IC95%)	p	RC ajustada (IC95%)	p	
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	1,00 (0,95 - 1,06)	0,55	0,98 (0,93 - 1,04)	0,69	0,83
Cálcio iônico (mmol/L)x100	0,86 (0,72 - 1,03)	0,11	0,88 (0,74 - 1,05)	0,17	0,25
PTHi (pg/mL)	1,00 (0,99 - 1,02)	0,54	1,00 (0,99 - 1,01)	0,56	0,81

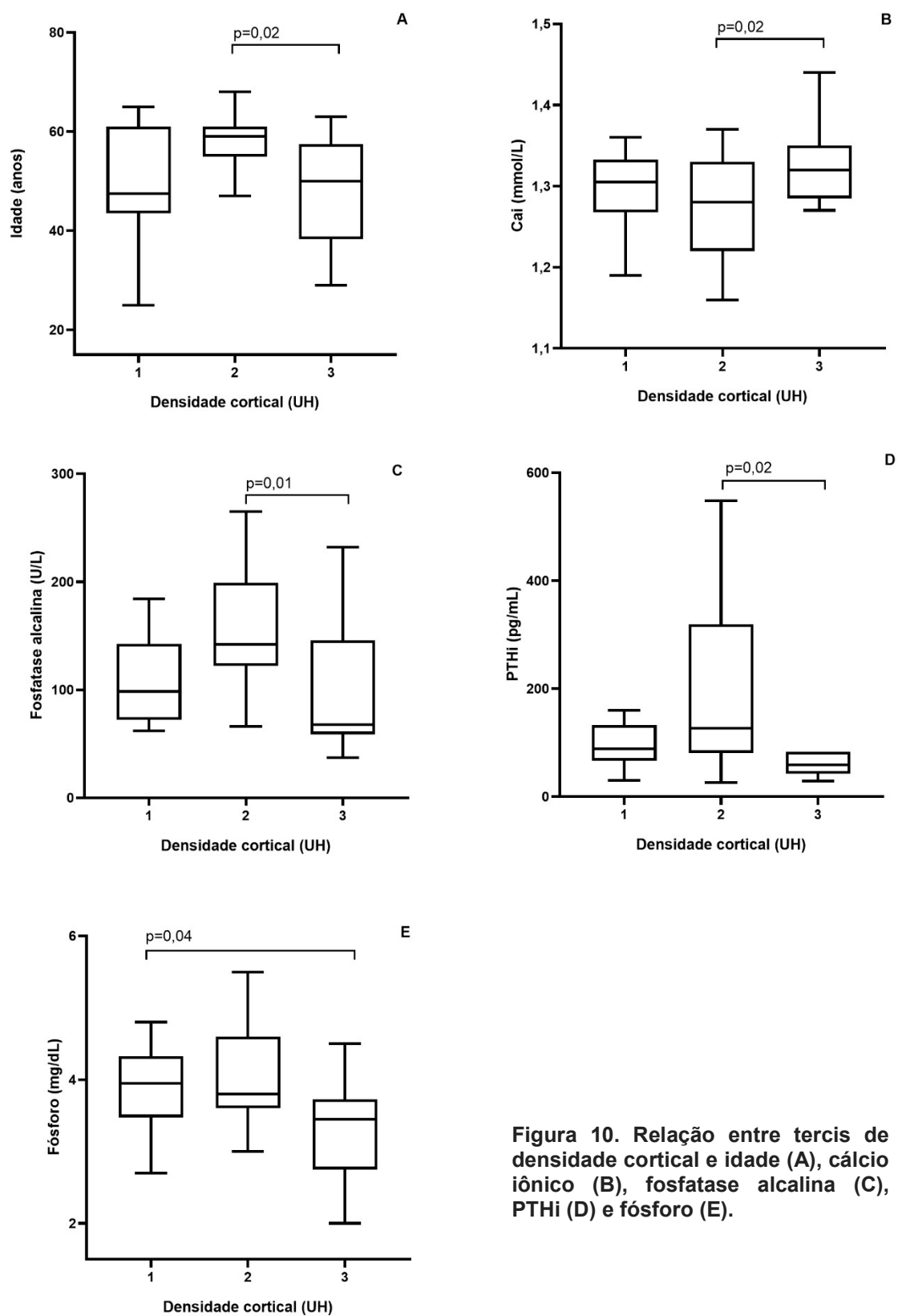
Nota: TFGe (estimada pelo CKD-EPI) e PTHi (hormônio paratireoidiano intacto)

Considerando-se a densidade, observou-se uma diferença na idade e nas concentrações de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e PTHi (Tabela 8). A idade ( $p=0,02$ ; Figura 10A), a fosfatase alcalina ( $p=0,01$ ; Figura 10C) e o PTHi ( $p=0,02$ ; Figura 10D) foram significativamente maiores e o cálcio ( $p=0,02$ ; Figura 10B) menor no segundo quando comparados ao terceiro tercil. Já o fósforo foi significativamente maior ( $p=0,04$ ; Figura 10E) no primeiro, quando comparado ao terceiro tercil. A análise multivariada identificou o fósforo e a idade como variáveis independentes associadas à densidade cortical (Tabela 9).

**Tabela 8. Relação entre densidade cortical e parâmetros clínicos e laboratoriais**

	Tercil 1	Tercil 2	Tercil 3	p
Idade (anos)	49,79 ± 11,73	58,20 ± 5,09	48,00 ± 10,88	<b>0,02</b>
Índice de Massa corporal	26,11 ± 4,17	26,32 ± 5,14	26,01 ± 4,33	0,98
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	34,14 ± 12,56	29,13 ± 14,62	44,04 ± 20,27	0,05
Bicarbonato (mEq/L)	24,55 ± 3,02	23,63 ± 3,05	24,39 ± 2,61	0,66
FGF23 (pg/mL)	65,84 ± 77,58	72,26 ± 54,52	49,54 ± 31,28	0,66
Klotho (pg/mL)	61,36 ± 53,30	49,24 ± 39,78	129,31 ± 177,62	0,39
Cálcio iônico (mmol/L)	1,30 ± 0,05	1,27 ± 0,06	1,33 ± 0,05	<b>0,03</b>
Fósforo (mg/dL)	3,89 ± 0,58	3,98 ± 0,67	3,26 ± 0,70	<b>0,01</b>
Fosfatase alcalina (U/L)	116,86 ± 55,01	169,47 ± 92,58	104,36 ± 68,52	<b>0,02</b>
PTHi (pg/mL)	123,00 ± 105,11	201,73 ± 163,22	83,43 ± 75,41	<b>0,03</b>
25(OH)D (ng/mL)	32,56 ± 9,33	26,11 ± 9,74	32,99 ± 8,84	0,10
1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	40,64 ± 12,16	42,03 ± 24,22	41,17 ± 19,13	0,85

Nota: TFGe (estimada pelo CKD-EPI), FGF23 (fator de crescimento de fibroblasto 23), PTHi (hormônio paratireoidiano intacto), 25 (OH)D (calcidiol) e 1,25(OH)<sub>2</sub>D (calcitriol)



**Figura 10.** Relação entre tercís de densidade cortical e idade (A), cálcio iônico (B), fosfatase alcalina (C), PTHi (D) e fósforo (E).

**Tabela 9. Análise multivariada para tercil de densidade cortical**

	Referência Tercil 3				
	Tercil 1		Tercil 2		p global
	RC ajustada (IC95%)	p	RC ajustada (IC95%)	p	
Idade (anos)	1,02 (0,93 - 1,11)	0,66	1,14 (1,00 - 1,29)	0,04	0,12
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	0,96 (0,89 - 1,03)	0,35	0,96 (0,88 - 1,04)	0,38	0,59
Cálcio iônico (mmol/L)x100	0,76 (0,57 - 1,02)	0,07	0,78 (0,57 - 1,06)	0,58	0,19
Fósforo (mg/dL)	10,57 (1,34 - 82,95)	<b>0,03</b>	4,57 (0,47 - 43,82)	0,19	0,08
Fosfatase alcalina (U/L)	1,00 (0,98 - 1,02)	0,49	1,01 (0,99 - 1,03)	0,08	0,15
PTHi (pg/mL)	0,98 (0,97 - 1,00)	0,17	0,99 (0,97 - 1,00)	0,35	0,37

Nota: TFGe (estimada pelo CKD-EPI) e PTHi (hormônio paratireoidiano intacto)

## 6 DISCUSSÃO

Neste estudo não pudemos demonstrar qualquer relação entre densidade do osso cortical medida pela QCT e as medidas estruturais obtidas pela análise histomorfométrica do osso cortical de pacientes com DRC em tratamento conservador. Por outro lado, pudemos identificar associações entre algumas variáveis clínicas, bioquímicas e hormonais com os diferentes parâmetros de avaliação do osso cortical nessa população.

A biópsia óssea seguida de histomorfometria continua sendo o padrão-ouro para a avaliação do tecido ósseo na ODR. Esforços têm sido tomados no sentido de substituir a biópsia óssea por métodos não-invasivos, quer sejam eles bioquímicos ou de imagem (6,47,49,52,63,64). Além disso, diferentemente do osso trabecular, os estudos com osso cortical são escassos na literatura, particularmente nos pacientes com DRC (49,65). O presente estudo é o primeiro que avaliou a relação do osso cortical entre QCT e biópsia óssea. Vale lembrar, no entanto, que estudo com desenho semelhante, avaliando o osso trabecular, já foi publicado por nosso grupo (9). Naquele estudo demonstramos uma associação entre a densidade óssea trabecular avaliada pela QCT e a microarquitetura óssea obtida por histomorfometria em pacientes em hemodiálise. Interessantemente, diferente do osso trabecular, no presente estudo não observamos uma relação entre a densidade do osso cortical e os parâmetros da biópsia óssea.

Uma razão para nossos achados pode ter decorrido das limitações técnicas da QCT quando da avaliação do osso cortical. Esse método mede indiretamente a porosidade cortical, assumindo que as medidas da densidade refletem as da porosidade (48). Além disso, a QCT possui uma limitação de resolução da ordem de 250  $\mu\text{m}$  ou mais (2). Vale lembrar que, em condições normais, mais de 60% dos poros intracorticais têm diâmetro menor que 100  $\mu\text{m}$  (16). Neste estudo, os pacientes exibiram uma porosidade cortical (4,6%) similar àquela descrita em indivíduos saudáveis (1,9-10%) e em sujeitos *post mortem* sem patologias do metabolismo ósseo (4,4%) (36,66). Por outro lado, estudos que incluíram populações com porosidades maiores, agora medidas diretamente por métodos de imagem, como micro-radiografias e HR-pQCT, demonstraram que a QCT foi capaz de refletir a porosidade do osso cortical. Bousson e col. (47), avaliando micro-radiografias de espécimes

ósseos *ex vivo* com porosidade cortical que variou de 3 a 16%, observaram que a QCT foi bem-sucedida na detecção de alterações na densidade óssea. Da mesma forma, Ahmed e col. (48), em uma amostra com porosidade cortical superior a 15%, encontraram uma forte correlação entre a densidade cortical medida pela QCT e a porosidade medida pela HR-pQCT. Portanto, a porosidade cortical normal observada no presente estudo pode ter reduzido a eficácia da QCT em refletir a porosidade cortical medida por biópsia óssea nesta população.

A biópsia óssea, entretanto, pode também incorrer em limitações técnicas. Embora seja considerado o padrão-ouro para a determinação da mineralização e remodelação óssea, a biópsia provavelmente não é o melhor método para avaliar a estrutura óssea (20). A biópsia óssea fornece apenas uma visão bidimensional (2D) do tecido ósseo, diferente daquela tridimensional (3D), avaliada por alguns métodos de imagens. Sharma e col. (67), estudando osso cortical em pacientes com DRC, não encontraram correlação entre os parâmetros histomorfométricos e a micro-CT, sendo a porosidade cortical maior na micro-CT do que aquela observada na biópsia óssea. Essa diferença foi atribuída à porção limitada do córtex quando avaliada em 2D pela histomorfometria, comparada ao córtex total avaliado em 3D pela micro-CT. Além disso, a biópsia óssea deve ser realizada na crista ilíaca, por este ser um local anatômico seguro e de fácil acesso. É importante mencionar que a avaliação da biópsia do osso cortical obtida na crista ilíaca é limitada ao tamanho e localização da amostra, o que restringe sua representatividade da massa óssea cortical total (20). Um estudo recente que comparou a histomorfometria óssea de diferentes locais ósseos, revelou a heterogeneidade da porosidade cortical entre eles (66). A crista ilíaca não é um osso de sustentação, diferente da coluna vertebral que tem essa função (20). Isso pode ter interferido nos nossos resultados, quando da comparação da cortical do osso ilíaco (biópsia) com aquela da vértebra (QCT).

Uma segunda análise desse estudo foi investigar a relação dos parâmetros do metabolismo mineral com aqueles do osso cortical, obtidos pela QCT e biópsia óssea nessa população. Dentre as alterações do metabolismo mineral da DRC destaca-se a elevação do PTH, que se associa à doença óssea de alta remodelação (6). Esta se caracteriza por apresentar um aumento da formação e reabsorção ósseas, cujos processos estão desacoplados, provocando um desarranjo da arquitetura do osso trabecular. Esse padrão histológico invade o osso cortical, alargando os canais de

Havers e Volkmann, resultando na trabeculação da camada cortical, com aumento de sua porosidade e afilamento de sua espessura (67). De fato, Marques e col., em uma população de pacientes em hemodiálise, com alta prevalência de doença óssea de alta remodelação, observaram uma relação entre o PTH e a porosidade cortical (65). Outro estudo prospectivo, com pacientes em hemodiálise, demonstrou que a elevação do PTH se associou ao aumento da porosidade cortical (68). Como já mencionado, a porosidade cortical se mostrou normal nessa coorte estudada, e isso pode estar relacionado à doença óssea de baixa remodelação, observada no osso trabecular nessa população, conforme já publicado (60). Vale ressaltar, que estudos anteriores, do nosso grupo e de outros, que avaliaram população pré-dialítica, já haviam demonstrado uma alta prevalência de doença óssea de baixa remodelação (69,70,71). Até então não havia dados consistentes a respeito das características do osso cortical na população pré-dialítica, com baixa remodelação óssea. Esse tipo de doença óssea é caracterizado pela baixa formação e reabsorção ósseas no osso trabecular e com comprometimento variável da microarquitetura óssea. Poderíamos supor que as diferenças do osso cortical entre as doenças ósseas de alta e baixa remodelação, estão associadas aos níveis de PTH, elevados ou relativamente baixos, respectivamente. Interessantemente, no presente estudo, com predomínio de doença de baixa remodelação (osso trabecular), porosidade normal (osso cortical) e níveis relativamente baixos de PTH, pudemos, ainda assim, observar uma associação dos níveis desse hormônio com a porosidade, espessura e densidade do osso cortical. Tais achados podem indicar uma ação precoce do PTH sobre o metabolismo do osso cortical, que mesmo em seus níveis mais baixos, próprios dessa fase pré-dialítica da DRC, já podem comprometer a porosidade cortical. Portanto, podemos dizer, que apesar da relação direta entre PTH e porosidade nesse estudo, os níveis desse hormônio não foram suficientemente elevados para causar um aumento da porosidade do osso cortical acima de seu intervalo de normalidade nessa população.

Além do PTH, outros fatores do metabolismo mineral, como cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, estiveram associados aos parâmetros do osso cortical. Como se sabe, tais fatores estão intimamente relacionados ao PTH, quer seja na fisiologia ou em estados patológicos (72,73), como na perda de função renal. De fato, observamos correlações entre PTH e fósforo ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,01$ ), cálcio ( $r = -0,64$ ;  $p < 0,01$ ) e fosfatase alcalina ( $r = 0,33$ ;  $p < 0,01$ ), o que pode explicar as relações desses

parâmetros com a porosidade, densidade e espessura do osso cortical observadas. Outros importantes fatores que se correlacionaram com porosidade e densidade corticais foram a idade e a função renal. Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados na literatura que mostra a relação do aumento da porosidade com o envelhecimento, assim como, com a perda da função renal (74,75,76,77).

Este estudo tem algumas limitações. Uma delas é o fato de ser uma análise *post hoc* de um estudo transversal e o de ter utilizado um novo método de imagem ainda sem valores de referência definidos. Além disso, a tomografia computadorizada do osso cortical foi avaliada em um sítio diferente daquele da biópsia óssea. Entretanto, este foi o primeiro estudo que avaliou as relações entre um método de imagem inovador, a biópsia do osso cortical e o metabolismo mineral em pacientes com DRC na fase pré-dialítica.

## **7 CONCLUSÃO**

Em conclusão, a densidade óssea cortical medida pela QCT não está associada a parâmetros histomorfométricos estruturais do osso cortical de pacientes com DRC pré-dialítica. Além disso, a ação do PTH no osso cortical já pode ser observada nessa população.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD–MBD Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD–MBD). *Kidney International*. 76 (Supplement 113): 1-130. 2009.
2. Cooper, D.M.L.; Kawalilak, C.E.; Harrison, K.; Johnston, B.D.; Johnston, J.D. Cortical bone porosity: What is it, why is it important, and how can we detect it? *Cur Osteoporos Rep*. 14: 187-198, 2016.
3. Clarke, B. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society Nephrology*. 3: S131-S139. 2008.
4. Parfitt, A.M.; Drezner, M.K.; Glorieux, F.H.; Kanis, J.A.; Malluche, H.; Meunier, P.J.; Otto, S.M. and Recker, R.R. Bone Histomorphometry: Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2(Number 6): 595-610. 1987.
5. Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, et al. Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*. 2013 January; 28(1): 2–17.
6. Sprague, SM; Bellorin-Font, E; Jorgetti, V; Carvalho, AB; Malluche, HH; Ferreira, A; D'Haese, PC; Drüeke, TB; Du, H; Manley, T; Rojas, E; Moe, SM. Diagnostic Accuracy of Bone Turnover Markers and Bone Histology in Patients With CKD Treated by Dialysis. *Am J Kidney Dis*. 2016: 67(4):559-66.
7. Nickolas, T.L.; Stein, E.; Cohen, A.; Thomas, V.; Staron, R.B.; McMahon, D.J.; Leonard, M.B. and Shane, E. Bone Mass and Microarchitecture in CKD Patients with Fractures. *Journal of American Society of Nephrology*. 21: 1371-1380, 2010.

8. Jamal, S.A; Gilbert, J.; Gordon, C. and Bauer, D.C. Cortical PQCT Measures Are Associated With Fractures in Dialysis Patients. *Journal of Bone and Mineral Research*. 21: 543-548. 2006
9. Carvalho, A.B; Carneiro, R.; Leme, G.M.; Rochitte, C.E.; Santos, R.D.; Miname, M.H.; Moyses, R.M.; Jorgetti, V. and Canziani, M.E.F and cols. Vertebral bone density by quantitative computed tomography mirrors bone structure histomorphometric parameters in hemodialysis patients. *Journal of Bone Mineral Research*. 31 (5): 551-555. 2013.
10. Dirckx , N and Maes, C. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Chapter 3: Local and Circulating Osteoprogenitor Cells and Lineages. 9ª Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019.
11. Junqueira, L. C.; Carneiro, J.; Abrahamsohn, P. *Histologia básica: texto e atlas*. Capítulo 8: Tecido ósseo. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
12. Seeman, E. and Delmas, P.D. Bone quality – The material and structural basis of bone strength and fragility. *NEJM*. 354:2250-61, 2006.
13. Marieb, E.N.; Hoehn, K. *Human Anatomy & Physiology*. Chapter 6: Bone and Skeletal Tissues. 11th Edition. Pearson; 2018.
14. Augat,P. and Schorlemmer,S. The role of cortical bone and its microstructure in bone strength. *Age and ageing*. 35-S2.2006.
15. Cooper, D.M.L; Thomas, C.D.L; Clement, J.G; Turinsky, A.L; Sensen, C.W; Hallgrimsson, B. Age-dependet change in the 3D structure of cortical porosity at the human femoral midshaft. *Bone*. 40 (4): 957-65, 2007.
16. Zebaze, R. and Seeman, E. Cortical Bone: A challenging Geography. *Journal of Bone and Mineral Research*. 30: 46-54. 2015.
17. Parfitt, A.M. A Structural Approach to Renal Bone Disease. *Journal of Bone and Mineral Research*. 13 (Number 8): 1213-1220. 1998.

18. Chen H, Zhou X, Shoumura S, Emura S, Bunai Y. Age- and gender-dependent changes in three-dimensional microstructure of cortical and trabecular bone at the human femoral neck. *Osteoporos Int.* 2010. 21(4):627-36.
19. OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016  
<http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24>.  
 Chapter 6. Bone Tissue and the Skeletal System
20. Ott, S. M. Cortical or trabecular bone: what's the difference? *Am J Nephrol.* 47: 373-375, 2018.
21. Guntur, AR and Rose, CJ Rosen. Bone as an Endocrine Organ. *Endocr Pract.* 2012; Sep-Oct; 18(5): 758–762.
22. Takayanagi, H. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 6: Osteoclast biology and bone resorption. 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019.
23. Bradley, EW; Westendorf JJ; Van Wijnen, AJ and Dudakovic, A. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 4: Osteoblasts: Function, Development, and Regulation. 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019
24. Gorter, DJJ; Sánchez-Duffhues, G and Dijke, P. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 7: Signal Transduction Cascades Controlling Osteoblast Differentiation. 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019.
25. Chen, H.; Zhou, X.; Fujita, H.; Onozuka, M. and Kubo, K.Y. Age-related changes in trabecular and cortical bone microstructure. *Int J Endocrinol.* 2013:213-234.
26. Ritzel H, Amling M, Pösl M, Hahn M, Delling G. The thickness of human vertebral cortical bone and its changes in aging and osteoporosis: a histomorphometric analysis of the complete spinal column from thirty-seven autopsy specimens. *J Bone Miner Res.* 1997 Jan;12(1):89-95.

27. Bala Y, Zebaze R, Seeman E. Role of cortical bone in bone fragility. *Curr Opin Rheumatol*. 2015 Jul;27(4):406-13.
28. Larsson, T.; Nisbeth U.; Ljunggren, O.; Jüppner, H and Jonsson, K.B. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney International*. 64: 2272-2279. 2003.
29. Silver J, Rodriguez M, Slatopolsky E. FGF23 and PTH – double agents at the heart of CKD. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; 27: 1715–1720.
30. John GB, Cheng C, Kuro-o M. Role of klotho in aging, phosphate metabolism, and CKD. *Am J Kidney Dis*. 2011 July; 58(1): 127–134. Author manuscript; available in PMC 2012 July 1.
31. Hanudel, MR; Moe, S and Salusky, IB. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 90: Pathophysiology and Treatment of Chronic Kidney Disease. 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019.
32. CKD-MBD Guideline Update Quick Reference Guide, 2017  
[https://kdigo.org/wpcontent/uploads/2017/02/KDIGO\\_CKDMBDQuickReferenceGuide.pdf](https://kdigo.org/wpcontent/uploads/2017/02/KDIGO_CKDMBDQuickReferenceGuide.pdf). Acesso em 24.10.2020
33. Moe, S; Drueke T; Cunningham, J; Goodman, W; Martin, K; Olgaard K; Ott, S; Sprague, S; Lameire, N and Eknoyan, G. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2006: 69:1945–1953.
34. Seeman, E. Overview of bone microstructure, and treatment of bone fragility in chronic kidney disease. *Nephrology*. 2017. 22 Suppl 2:34-35.
35. Kazama JJ, Matsuo K, Iwasaki Y, Fukagawa M. Chronic kidney disease and bone metabolism. *J Bone Miner Metab*. 2015. 33(3):245-52.

36. Malluche HH, Mawad HW, Monier-Faugere MC. Renal osteodystrophy in the first decade of the new millennium: analysis of 630 bone biopsies in black and white patients. *J Bone Miner Res.* 2011; 26:1368–76.
37. Carvalho, C.G; Pereira, R.C; Gales, B.; Salusky, I.B. and Wesseling-Perry, K. Cortical and trabecular bone in pediatric end-stage kidney disease. *Pediatric Nephrology.* 2015; 30: 497-502.
38. Nickolas, T.L.; Stein, E.; Dworakowski, E.; Nishiyama, K.K; Komandha-Kosse, M.; Zhang, C.A; McMahon, D.J.; Liu, X.S.; Boutroy, S.; Cremers, S. and Shane;E. Rapid cortical bone loss in patients with chronic kidney disease. *JBMR.* 28, nº8: 1811:1820, 2013.
39. Goodman, WG. Renal Osteodystrophy. *Principles of Bone Biology.* Chapter 68: Pathogenic Mechanisms and Therapeutic Options. 3rd Edition. Academic Press. 2008.
40. Jamal AS and Nickolas TL. Bone imaging and fracture risk assessment in kidney disease. *Curr Osteoporos Rep.* 2015: Jun;13(3):166-72.
41. Sornay-Rendu, E.; Munoz, F.; Garnero, P.; Duboeuf, F. and Delmas, P.D. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. *JBMR.* Volume 20, number 10, 2005.
42. Sornay-Rendu, E.; Boutroy, S.; Munoz, F. and Delmas, P.D. Alterations of cortical and trabecular architecture are associated with fractures in postmenopausal women, partially independent of decreased BMD measured by DXA: the OFELY study. *JBMR.* Volume 22, number 3, 2007.
43. Adams, JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol.* 2009: Sep, 71(3):415-24.
44. Engelke K. Quantitative Computed Tomography-Current Status and New Developments. *J Clin Densitom.* 2017. 20(3):309-321.
45. Hangartner, T and Gilsanz, V. Evaluation of cortical bone by computed tomography. *JBMR.* 1996: vol 11 (10):1518-25.

46. Nishiyama, KK; Dall'Ara, E and Engelke, K. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 33: Advanced techniques of bone mass measurements and strength in adults. 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc. 2019.
47. Bousson, V.; Bergot, C.; Meunier, A.; Barbot, F.; Parlier-Cuau, C.; Laval-Jeantet, A and Laredo, J. CT of the middiaphyseal femur: cortical bone mineral density and relation to porosity. *Radiology*. 217:179-187, 2000.
48. Ahmed LA, Shigdel R, Joakimesen RM, Eldevik OP, Eriksen EF, Ghasem-Zadeh, A, e col. Measurement of cortical porosity of the proximal femur improves identification of women with nonvertebral fragility fractures. *Osteoporos Int*. 2015; 26:2137-46.
49. Rantalainen, T.; Nikander, R.; Heinonen, A.; Daly, R.M. and Sievänen. An open source approach for regional cortical bone mineral density analysis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 11 (3): 243-248; 2011.
50. Cooper DML, Matyas JR, Katzenberg MA and Hallgrímsson B. Comparison of Microcomputed Tomographic and Microradiographic Measurements of Cortical Bone Porosity. 2004: *Calcif Tissue Int*; 74:437–447.
51. Jorgenson, B.L; Buie, H.R; McErlain, D.D; Sandino, C. and Boyd, S.K. A comparison of methods for in vivo assessment of cortical porosity in the human appendicular skeleton. *Bone*. 73: 167-75, 2015.
52. Ostertag, A.; Peyrin, F.; Fernandez, S.; Laredo, J.D; de Vernejoul, M.C and Chappard, C. Cortical measurements of the tibia from high resolution peripheral quantitative computed tomography images: a comparison with synchrotron radiation micro-computed tomography. *Bone*. 63C: 7-14, 2014.
53. Barreto, FC; Costa, CRV; Reis, LM, Custódio, MR. Biópsia óssea na prática nefrológica. *J Bras Nefrol*. 2018: 40 (4), 366-374.
54. Yeni, N.Y; Brown, Z; Wang, and Norman, T.L. The influence of bone morphology on fracture toughness of the human femur and tibia. *Bone*. 21, nº 5: 453-459, 1997.

55. Ural A, Vashishth D. Effects of intracortical porosity on fracture toughness in aging human bone: a microCT-based cohesive finite element study. *J Biomech Eng.* 2007 Oct;129(5):625-31.
56. Chan KS, Nicoletta DP . Micromechanical modeling of R-curve behaviors in human cortical bone. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2012 Dec;16:136-52.
57. Bjørnerem, Å; Bui, QM; Ghasem-Zadeh, A; Hopper, JL; Zebaze, R and Seeman, E. Fracture Risk and Height: An Association Partly Accounted for by Cortical Porosity of Relatively Thinner Cortices. *JBMR.* 2013: 28 (9), 2017-26.
58. Recker, RR and Moreira, CA. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Chapter 39 Bone Histomorphometry in Clinical Practice. 2019: 9<sup>a</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc.
59. Frost, HM. Tetracycline-base histological analysis of bone remodeling. *Calc Tiss Res.* 1969: 3,211–37.
60. Tomiyama, C.; Carvalho, A.B.; Higa, A.; Jorgetti, V.; Draibe, S.A and Canziani, M.E.F. Coronary Calcification Is Associated with Lower Bone Formation Rate in CKD Patients Not Yet in Dialysis Treatment. *Journal of Bone and Mineral Research.* 25 (3): 499-504, 2010.
61. Levey, A.S; Stevens, L.A; Schmid, C.H.; Zhang, Y; Castro III, A.F.; Feldman, H.I; Kusek, J.W.; Eggers, P.; Lente, F.V.; Greene, T.; Coresh, J. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Inter Med.* May 5; 150(9): 604-612, 2009.
62. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). 67(6):2089. *Kidney Int.* 2005.
63. Cohen A, Dempster DW, Müller R, Guo XE, Nickolas, TL, Liu S, e col. Assessment of trabecular and cortical architecture and mechanical competence of bone by high-resolution peripheral computed tomography: comparison with transiliac bone biopsy. *Osteoporos Int.* 2010; 21(2):263-73.

64. Lehmann, G; Ott, U; Kammerer, D; Schutze, J; Wolf, G. Bone histomorphometry and biochemical markers of bone turnover in patients with chronic kidney disease Stages 3-5. *Clinical Nephrology*, 2008 Oct, Vol.70(4), pp.296-305.
65. Marques IDB, Araújo MJCLN, Gracioli FG, Reis LM, Pereira RM, Custódio MR, e col. Biopsy vs. peripheral computed tomography to assess bone disease in CKD patients on dialysis: differences and similarities. *Osteoporos Int*. 2017; 28:1675-83.
66. Tong X, Burton I, Jurvelin JK, Isaksson H, Kröger H. Iliac crest histomorphometry and skeletal heterogeneity in men. *Bone Rep*. 2017; 6:9-16.
67. Sharma AK, Toussaint ND, Masterson R, Holt SG, Rajapakse CS, Ebeling PR, e col. Deterioration of cortical bone microarchitecture: critical component of renal osteodystrophy evaluation. *Am J Nephrol*. 2018; 47:376-84.
68. Araujo MCLN, Karohl C, Elias A, Rosilene M ; Barreto FC, Barreto DV, Canziani MEF, Carvalho AB, Jorgetti V e Moyses, RMA. The pitfall of treating low bone turnover: Effects on cortical porosity. *Bone*, October 2016, Vol.91, pp.75-80.
69. Torres, Armando ; Lorenzo, Victor ; Hernández, Domingo ; Rodríguez, José C ; Teresa Concepción, María ; Rodríguez, Aurelio P ; Hernández, Alexis ; de Bonis, Eduardo ; Darias, Ernesto ; González-Posada, José M. Bone disease in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: Evidence of a better bone response to PTH. *Kidney international*, May 1995, Vol.47(5), pp.1434-1442
70. Carvalho AB, Lobão RR, Cuppari L, Draibe SA, Ajzen H. Does hypophosphataemia induce hypoparathyroidism in pre-dialysis patients? *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13 Suppl 3:12-4.
71. Lobão R, Carvalho AB, Cuppari L, Ventura R, Lazaretti-Castro M, Jorgetti V, e col. High prevalence of low bone mineral density in pre-dialysis chronic kidney disease patients: bone histomorphometric analysis. *Clin Nephrol*. 2004; 62(6):432-9.



72. Kumar R. Vitamin D and calcium transport. *Kidney Int.* 1991, 40:1177–1189.
73. Kestenbaum B and Houillier P. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Chapter 10: Disorders of Calcium, Phosphate, and Magnesium Metabolism. 6<sup>a</sup> Edition. Elsevier, 2018.
74. Brockstedt H, Kassem M, Eriksen EF, et al. (1993). Age- and sex related changes in iliac cortical bone mass and remodeling. *Bone* 14, 681–691.
75. Melsen F, Melsen B, Mosekilde L, et al. (1978). Histomorphometric analysis of normal bone from the iliac crest. *Acta Pathol Microbiol Scand* 86, 70–81.
76. Runesson B, Trevisan M, Iseri K, et al.: Fractures and their sequelae in non-dialysis-dependent chronic kidney disease: the Stockholm creatinine measurements project. *Nephrol Dial Transplant*, 2019.
77. Jadoul M, Albert JM, Akiba T, et al.: Incidence and risk factors for hip or other bone fractures among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 70: 1358-1366, 2006.

## **APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



UNIFESP - HOSPITAL SÃO  
PAULO - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** VALIDAÇÃO DA MEDIDA DO OSSO CORTICAL PELA TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA ATRAVÉS DA HISTOMORFOMETRIA ÓSSEA DO OSSO CORTICAL DE PACIENTES COM DRC EM TRATAMENTO CONSERVADOR.

**Pesquisador:** AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 62329416.8.0000.5505

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de São Paulo

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.899.239

### Apresentação do Projeto:

Projeto CEP/UNIFESP n:1602/2016 (parecer final)

O distúrbio mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO-DRC) é o termo usado para agrupar as alterações clínicas, bioquímicas, tecido ósseo, e as calcificações extra ósseas, comumente apresentadas pelos pacientes com portadores de DRC em seus vários estágios de disfunção renal. O termo osteodistrofia renal (ODR) se restringe às alterações encontradas na biópsia óssea, quando avaliada pela histomorfometria óssea. Pacientes com DRC evoluem com alteração da microarquitetura do osso cortical, entre elas o aumento da porosidade e redução da espessura, já avaliados em estudos com biópsia óssea. A biópsia óssea é o padrão-ouro para o diagnóstico e classificação da ODR, para a análise do seu grau de severidade e para avaliação da resposta às intervenções terapêuticas. No entanto, é um procedimento invasivo, de alto custo e necessitar de centro especializado para sua análise, fatos que limitam seu uso. Desta forma a possibilidade do uso de técnicas não invasivas para avaliação óssea de pacientes portadores de DRC é relevante clinicamente, considerando a relação da DMO-DRC com a ocorrência frequente de fraturas, deformidades esqueléticas, doença cardiovascular e comprometimento piora da qualidade de vida de pacientes com DRC. A tomografia computadorizada de vértebra (TCV) surge então como uma

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.899.239

técnica não invasiva para a avaliação óssea, principalmente da microarquitetura desse tecido, que implica na sua qualidade, além da vantagem em permitir o estudo isolado de osso trabecular e cortical. Este estudo tem como proposta validar as medidas do osso cortical, obtidas pela tomografia computadorizada de vértebra, através da medida dos parâmetros histo-morfométricos estruturais, em osso cortical de biópsias de pacientes com DRC, em tratamento conservador

#### **Objetivo da Pesquisa:**

- Hipótese: Considerando que pacientes com DRC demonstram aumento da porosidade e redução da espessura do osso cortical, a hipótese desse estudo é de que as alterações histomorfométricas estruturais do osso cortical possam estar associadas aos parâmetros quantitativos desse osso, medidos através de tomografia computadorizada de vértebra, em pacientes com DRC.

-Objetivo Primário: Validar as medidas do osso cortical, obtidas pela tomografia computadorizada de vértebra, através da medida dos parâmetros histomorfométricos estruturais, em osso cortical de biópsias de pacientes com DRC, em tratamento conservador.

-Objetivo Secundário: Analisar as associações entre o osso cortical, avaliado pela tomografia computadorizada vertebral, e os parâmetros laboratoriais do metabolismo ósseo, em pacientes com DRC, em tratamento conservador

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Em relação aos riscos e benefícios, o pesquisador declara: - Riscos: Como se trata de um trabalho transversal desenvolvido a partir de dados coletados previamente não apresenta riscos.

- Benefícios: Validação de técnica não invasiva para avaliação de osso cortical.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

-Trata-se de projeto de mestrado da aluna Amandha Luysa Martins Leal Bittencourt, com orientação de Prof. Dr. Aluizio Barbosa Carvalho. Projeto vinculado à DISCIPLINA DE NEFROLOGIA, UNIFESP Campus São Paulo.

-Centro Coparticipante: FUNDAÇÃO ZERBINI; responsável: Carlos Eduardo Rochitte.

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SÃO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.899.239

**TIPO DE ESTUDO:** Estudo transversal que será desenvolvido a partir de dados coletados em estudo previamente aprovado pelo CEP e publicado (CEP:0280/03 - TOMIYAMA, 2010). **PARTICIPANTES/LOCAL:** Este estudo envolveu 50 pacientes com DRC, em tratamento conservador, acompanhados no Ambulatório de Uremia, da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, por pelo menos 3 meses.

**PROCEDIMENTOS:** -Projeto anterior: Conforme previamente descrito na metodologia do estudo anterior, os pacientes foram submetidos, concomitantemente, a exames laboratoriais, tomografia computadorizada de coronárias e biópsia óssea. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica, avaliação laboratorial, avaliação do osso cortical - Biópsia óssea. Todos os pacientes foram submetidos ao protocolo de marcação pela tetraciclina. -Presente projeto: Para analisar histomorfométrica do osso cortical será utilizado o software Osteomeasure. Os parâmetros histo-morfométricos analisados serão aqueles sugeridos pela American Society

of Bone e Mineral Research: Cortical porosity Ct.Po (%) e Cortical thickness Ct.Th (mcm). A análise histomorfométrica será feita 2 vezes, por um mesmo observador (intraobservador), e por 2 observadores de forma independente (interobservador). - Tomografia Computadorizada Quantitativa Vertebral As imagens da TCV serão

obtidas das imagens da tomografia computadorizada das coronárias, realizadas no estudo anterior. Imagens tomográficas de um corte axial do corpo vertebral, que se encontra ao nível da raiz da aorta, serão utilizadas para mensuração da área e densidade do osso cortical. A imagem selecionada será importada para o programa Image. Uma cópia da imagem DICOM (16 bits), será convertida em imagem de 8 bits. Será criada uma máscara para superfície cortical, externa e interna, utilizando-se a função threshold, com algoritmo Niblack e radius 4 (figura A). Com o instrumento de delimitação automática do Image J, seleciona-se um ponto do osso cortical que será então inteira e automaticamente delimitado. Uma vez delimitada a imagem da cortical, a mesma será sobreposta à imagem inicial (DICOM de 16 bits) (figura B), de onde serão obtidas as medidas de área em mm<sup>2</sup> e densidade em UH.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

- 1- Foram apresentados os principais documentos: folha de rosto; projeto completo;
- 2- outros documentos importantes anexados na PB: a)-justificativa para dispensa de TCLE e declaração de garantia de cumprimento da 466/12 (Pasta: TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência-Submissão 2; Documento: TCLE.docx)
- 3-Propõe dispensa do TCLE. Justificativa: O projeto atual trata-se de uma análise de bancos de

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.899.239

dados de estudo prévio realizado em 2008, durante o qual foi assinado o TCLE. Na ocasião, estes estudos foram aprovados pelo CEP da UNIFESP sob o número 0280/03. A pesquisa atual constitui-se em um estudo transversal, com pacientes portadores de doença renal crônica em tratamento conservador e avaliará a validação da medida do osso cortical pela tomografia computadorizada através da histomorfometria óssea do osso cortical em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador. No caso da atual pesquisa, a impossibilidade de um novo TCLE está relacionada ao fato de os indivíduos terem se dispersado ao longo do tempo. Alguns pacientes faleceram, outros perderam o acompanhamento no serviço, outros emigraram. A Dra. Cristianne Tomiyama, autora do estudo anterior, autorizou a utilização de seus bancos de dados para fins científicos. As cartas de autorização encontram-se em anexo. Eu, Amandha Luysa Martins Leal Bittencourt, assumo a responsabilidade pelas informações apresentadas. Diante do exposto, solicito ao CEP da UNIFESP a análise do projeto e, se possível, a dispensa da utilização do TCLE no projeto atual.

**Recomendações:**

Nada consta

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Trata-se de respostas de pendências ao parecer original consubstanciado CEP nº 1.855.693 de 08/12/2016, quanto aos seguintes questionamentos abaixo:

1-Foi informado que a Dra. Cristianne Tomiyama, autora do estudo anterior, autorizou a utilização de seus bancos de dados para fins científicos e que as cartas de autorização encontram-se em anexo. Essas cartas não foram encontradas. Favor anexá-las.

Resposta: Carta de autorização anexada (Tipo de Documento – “Outros”; Nome do documento – “Autorização Tomiyama”)

CEP-UNIFESP: PENDÊNCIA ATENDIDA

2-Se o estudo será baseado em utilização de seus bancos de dados de projeto já aprovado, qual será a participação do Centro Coparticipante?

Resposta: O Centro Coparticipante contribuiu no desenvolvimento do método de análise do Osso Cortical nas tomografias de coronárias do banco de dados. O projeto previamente aprovado, estudou o Osso Trabecular, destas mesmas imagens, através de metodologia distinta. Devido as diferentes características estruturais do Osso Cortical e Trabecular não foi possível usar o mesmo método de análise da pesquisa inicial.

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.899.239

**CEP-UNIFESP: PENDÊNCIA ATENDIDA**

3-O cronograma no formulário de submissão da Plataforma Brasil indica que parte do estudo já estará sendo iniciada antes da aprovação do protocolo. Será necessário adequar. Lembramos que nenhum estudo pode ser iniciado antes da aprovação pelo CEP/UNIFESP.

Resposta: Já adequado o Cronograma - anexado (Tipo de Documento – “Cronograma”), realizado correção em projeto detalhado e em formulário. O início da pesquisa será a partir da aprovação do CEP/UNIFESP.

**CEP-UNIFESP: PENDÊNCIA ATENDIDA**

4- Em relação ao orçamento: foi informado que o custo do projeto será de R\$ 0,00. Lembramos que nenhum projeto de pesquisa pode ter custo 0,00. Sempre há custos, por mínimos que sejam. Neste caso, por exemplo, haverá pelo menos custos de material de escritório e informática

Resposta: Já adequado o Orçamento - anexado (Tipo de Documento – “Orçamento”), realizado correção em projeto detalhado e em formulário.

**CEP-UNIFESP: PENDÊNCIA ATENDIDA**

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O CEP informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios parciais (anualmente), e o relatório final, quando do término do estudo..

Parecer acatado “ad ref” pelo coordenador

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_810768.pdf	05/01/2017 21:21:20		Aceito
Outros	Carta_Resposta.docx	05/01/2017 21:19:07	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	FINAL.docx	05/01/2017 17:47:47	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	05/01/2017 17:41:06	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



UNIFESP - HOSPITAL SÃO  
PAULO - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA



Continuação do Parecer: 1.899.239

Cronograma	CRONOGRAMA.docx	05/01/2017 17:36:52	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito
Outros	AutorizacaoTomiyama.jpg	05/01/2017 17:15:47	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	15/10/2016 17:31:12	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	15/10/2016 17:19:34	AMANDHA LUYSA MARTINS LEAL BITTENCOURT	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 20 de Janeiro de 2017

---

**Assinado por:**  
**Miguel Roberto Jorge**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5571-1062

**Fax:** (11)5539-7162

**E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com